



CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES QUÍMICAS E ANTIOXIDANTES DA SEMENTE, GERMINADOS, FLORES, POLPA E FOLHA DESENVOLVIDA DE ABÓBORA (*Cucurbita pepo* L.)

Keila Boschi

Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para obtenção do Grau de Mestre em Qualidade e Segurança Alimentar.

Orientado por

Proessora Doutora Elsa Cristina Dantas Ramalhosa

Professora Doutora Aziza Kamal Genena

**Bragança
2015**

Aos meus pais

À minha irmã

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por todas as oportunidades que me deste e por me fazer persistir e não desistir dos meus sonhos.

Aos meus pais e minha irmã, que sempre me apoiaram em todas as minhas escolhas e não mediram esforços para a realização deste mestrado. Vocês são o meu maior exemplo e donos do sentimento mais bonito que eu possa sentir, essa conquista é de vocês e por vocês.

À Professora Doutora Elsa Cristina Dantas Ramalhosa, da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança, orientadora deste trabalho, pela disponibilidade, paciência e conhecimentos repassados durante a realização deste trabalho, o meu muito obrigada.

Aos professores do Núcleo de Engenharia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Medianeira, em especial à Professora Doutora Aziza Kamal Genena pela co-orientação deste trabalho, por todo auxílio, apoio e confiança depositada em mim. Muito do que sei e sou hoje devo a vocês, muito obrigada.

À equipa do Laboratório de Agroindústrias do Instituto Politécnico de Bragança, pelo companheirismo, conhecimentos repassados, por toda ajuda, paciência e amizade durante a realização deste trabalho, muito obrigada.

Aos laboratórios de Solos e de Agrobiotecnologia do Instituto Politécnico de Bragança, pela disponibilidade e ajuda na parte experimental deste trabalho.

Ao Engenheiro Amílcar Santos Alves Pimentel, coordenador das estufas do Instituto Politécnico de Bragança, por conceder uma estufa e pela ajuda no plantio e cultivo das plantas de abóbora.

Aos meus amigos de longa data que mesmo com tamanha distância sempre se fizeram presentes, com palavras de apoio, carinho e incentivo durante esse período que estive fora. Eterno obrigada à vocês.

Enfim, a todos as amígdas construídas durante esse período de intercambio, em especial aos colegas de UTFPR, Adriano, Bárbara, Camila, Chalissa, Franciely e Rafaela, por todo companheirismo e pela irmandade construída. Vocês tornaram essa experiência muito melhor, a qual não teria sido tão valiosa sem vocês.

SUMÁRIO

RESUMO.....	I
ABSTRACT	iii
LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE TABELAS.....	vii
1. INTRODUÇÃO GERAL E OBJETIVOS DO TRABALHO	2
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	7
2.1 COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E NUTRICIONAL DOS DIFERENTES	
CONSTITUINTES DA ABÓBORA.....	7
2.1.1 SEMENTES DE ABÓBORA	8
2.1.2 GERMINADOS	10
2.1.3 FOLHAS DE ABÓBORA	11
2.1.4 FLORES DE ABÓBORA	13
2.2 TECNOLOGIAS DE PÓS-COLHEITA UTILIZADAS NA CONSERVAÇÃO	
DE FLORES COMESTÍVEIS.....	15
2.3 PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES	16
2.3.1 Carotenóides.....	18
2.3.2 Vitamina C	20
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
3.1 GERMINAÇÃO DAS SEMENTES E CULTIVO DA ABÓBORA.....	24
3.2 ANÁLISES QUÍMICAS	25
3.2.1 Teor de humidade e matéria seca	25
3.2.2 pH e acidez titulável (AT).....	26
3.2.3 Açúcares totais	27
3.2.4 Teor em cinzas	27
3.2.5 Teor de gordura	28
3.2.6 Teor em fibras	28
3.2.7 Teor em proteínas – Método de Kjeldahl.....	30
3.2.8 Concentração em ácido ascórbico	30
3.2.9 Conteúdo total de carotenóides	30
3.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	31
3.3.1 Preparação dos extratos	31
3.3.2 Teor em compostos fenólicos totais ou capacidade redutora total.....	31

3.3.3	Efeito bloqueador de radicais livres de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)	32
3.3.4	Poder redutor	33
3.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	33
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1	GERMINAÇÃO DAS SEMENTES E CULTIVO DA ABÓBORA	35
4.1.1	Germinados da abóbora.....	35
4.1.2	Cultivo da abóbora	36
4.2	ANÁLISES QUÍMICAS	37
4.3	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	47
4.3.1	Teor em compostos fenólicos totais (TFT) ou capacidade redutora total	47
4.3.2	Efeito bloqueador de radicais livres de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)	48
4.3.3	Poder redutor	50
4.4	COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO.....	52
4.5	ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)	53
5.	CONCLUSÃO	58
6.	REFERÊNCIAS	61

RESUMO

A abóbora compreende um total de 27 espécies conhecidas, tendo como nome científico *Cucurbita* spp., e pertencendo à Família das *Cucurbitaceae*. Este vegetal cumpre as exigências de uma alimentação saudável, sendo o seu fruto muito apreciado pelos consumidores pelo seu sabor suave e valor nutritivo, principalmente pelo elevado teor de vitamina A. As sementes da abóbora são também consideradas uma boa fonte de proteína, fibras e óleo, possibilitando o seu uso no enriquecimento de alimentos, sendo já atualmente consumidas como snack. Além disso, a abóbora é uma planta monoica, ou seja, possui flores masculinas e femininas na mesma planta, sendo estas comestíveis. Durante muitos séculos as flores comestíveis vêm fazendo parte da alimentação humana, existindo atualmente estudos que comprovam as suas propriedades antioxidantes e nutricionais. Contudo, existe pouca informação sobre flores de abóbora, bem como dos seus germinados.

Nesse sentido, o presente trabalho pretendeu contribuir para aumentar o conhecimento neste tema, designadamente ao nível da caracterização química e das propriedades antioxidantes das sementes, germinados, flores, fruto e folha desenvolvida de abóbora, em particular da *Cucurbita pepo* Linnaeus.

Na primeira etapa do trabalho foi realizada a germinação de sementes de abóbora em laboratório (360 sementes foram germinadas, gerando cerca de 682 gramas de germinados que posteriormente foram utilizados para a realização das análises). Para obtenção dos demais constituintes analisados, em paralelo, várias sementes foram plantadas em estufa num espaço de aproximadamente 30 m².

No que diz respeito as análises químicas realizadas, a humidade da semente apresentou-se muito inferior às demais partes analisadas, com cerca de $5,79 \pm 0,01\%$ quando comparado com percentagens em torno de 90% nos outros constituintes. A semente ainda se mostrou uma ótima fonte de óleo ($47,35 \pm 0,45$ g/100g de matéria fresca), fibras ($30,78 \pm 1,34$ g/100g de matéria fresca) e açúcares totais (6032 ± 213 mg de glucose/100g de matéria fresca). A flor apresentou os maiores teores em cinzas e proteínas, com $12,87 \pm 0,66$ e $8,76 \pm 1,70$ g/100g de matéria seca, respetivamente.

Em relação ao ácido ascórbico, expresso tanto em matéria fresca como em matéria seca, a flor apresentou o melhor resultado, revelando que 100 gramas de flor de abóbora seca (liofilizada) supre praticamente o dobro da dose diária necessária de ácido ascórbico (45 mg/dia) para um adulto saudável. Relativamente à concentração em carotenóides

totais, a folha desenvolvida foi o constituinte da abóbora que apresentou o maior valor. Sendo assim, a flor e a folha desenvolvida de abóbora surgem como interessantes fontes de compostos bioativos.

Tendo em conta as análises do potencial antioxidante, a raiz e a folha do germinado foram os constituintes que demonstraram os melhores resultados para todas as análises realizadas, embora a flor e a folha desenvolvida também apresentaram bons resultados quanto ao efeito bloqueador de radicais livres de DPPH. Os resultados obtidos para os germinados surpreenderam e deixam uma porta aberta para estudos posteriores, não somente de germinados de abóbora, mas também de outras variedades vegetais.

Em suma, os constituintes da abóbora demonstraram possuir uma composição tanto química, quanto antioxidante, capaz de conferir características benéficas para a saúde humana.

Palavras-chave: Abóbora, semente, flor, germinados, folha desenvolvida, propriedades químicas, atividade antioxidante.

ABSTRACT

The pumpkin comprises a total of 27 known species, having the scientific name *Cucurbita* spp., and belongs to the family of *Cucurbitaceae*. This vegetable fulfils the requirements of a healthy diet, being a fruit very appreciated by the consumers because of its smooth taste and nutritional value, mainly due to its high content of vitamin A. The seeds of pumpkin are also considered a good source of protein, fiber and oil, allowing their use in food enrichment, being currently consumed as snack. In addition, both male and female flowers are encountered on the same plant of the pumpkin, being edible. For many centuries the edible flowers have been making part of the human food, and there are currently studies that prove their antioxidant properties and nutritional factors. Nevertheless, little information on pumpkin flowers, as well as on sprouts, exists.

In this sense, the present study intended to contribute to increase the knowledge on this subject, namely at the level of the chemical characterization and antioxidant properties of seeds, sprouts, flowers, fruit and developed leaves of pumpkin, in particular of *Cucurbita pepo* Linnaeus.

In the first stage of the work the germination of pumpkin seeds was performed in laboratory (360 seeds were germinated, generating around 682 grams of sprouts which were subsequently used in the analysis. In parallel, for obtaining the other constituents, multiple seeds were planted in a greenhouse in a space of approximately 30 m².

Concerning the chemical analysis performed, the moisture content of the seeds were much lower than of the other constituents analyzed, with approximately $5.79 \pm 0.01\%$ when compared with percentages of around 90% of the other parts of the pumpkin. The seeds also showed to be a good source of oil (47.35 ± 0.45 g/100g of fresh matter), fibers (30.78 ± 1.34 g/100g of fresh matter) and total sugars (6032 ± 213 mg of glucose/100g of fresh matter). The flowers presented the largest contents in ashes and proteins, with 12.87 ± 0.66 and 8.76 ± 1.70 g/100g of dry matter, respectively.

In relation to ascorbic acid, expressed in both fresh matter and dry matter, the flowers presented the best result, revealing that 100 grams of flowers (lyophilized) supply practically twice the daily dose required of ascorbic acid (45 mg/day) for a healthy adult. In relation to the concentration in total carotenoids, the developed leaves were the constituent that presented the highest value. Thus, the flowers and the developed leaves of the pumpkin appear as interesting sources of bioactive compounds.

Regarding the analysis of the antioxidant activity, the roots and leaves of the sprouts were the constituents that had demonstrated the best results in all analyzes, although the flowers and the developed leaves also presented good results regarding the blocking effect of DPPH free radicals. The results obtained for the sprouts were surprising and leave a door open to subsequent studies, not only on pumpkin sprouts, but also on other vegetable varieties.

In conclusion, the constituents of pumpkin have demonstrated a chemical and antioxidant compositions capable of conferring beneficial characteristics to human health.

Keywords: Pumpkin, seed, flower, sprouts, developed leaf, chemical properties, antioxidant activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exemplos de variedades de abóbora (RAMOS <i>et al.</i> , 2010).	2
Figura 2. Flores de abóbora	3
Figura 3. Sementes de abóbora.....	9
Figura 4. Representação das folhas dos principais géneros de Cucurbita.	12
Figura 5. Estrutura do carotenóide com numeração comum (NAMITHA & NEGI, 2010).	19
Figura 6. Grupos terminais de carotenóides (os nomes dos carotenóides escritos são exemplos de carotenóides em alimentos) (NAMITHA & NEGI, 2010).	20
Figura 7. Estrutura molecular do ácido ascórbico (PEREIRA, 2008).	21
Figura 8. Recipiente de vidro preparado para a segunda etapa da germinação das sementes de abóbora.....	25
Figura 9. Surgimento da radícula.	35
Figura 10. Etapas do processo de germinação.....	36
Figura 11. Evolução das plantas de abóbora em estufa.	37
Figura 12. Concentração de açúcares totais por constituinte da abóbora (<i>Cucurbita pepo</i> L.).	46
Figura 13. Capacidade redutora total dos diversos constituintes da abóbora.	47
Figura 14. Efeito Bloqueador dos Radicais livres DPPH (%) em relação à concentração de extrato para diferentes constituintes da abóbora: A) Semente, B) Folha Germinado, C) Raiz Germinado, D) Folha Desenvolvida, E) Flor.	49
Figura 15. Valores de absorvância a 700 nm versus concentração de extrato para vários constituintes da abóbora: A) Semente, B) Folha Germinado, C) Raiz Germinado, D) Flor, E) Fruto, F) Folha Desenvolvida.	51
Figura 16. Análise de componentes principais efetuada aos diferentes componentes de abóbora.	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição nutricional das partes constituintes da abóbora.	8
Tabela 2. Composição nutricional de diferentes flores comestíveis (%).	14
Tabela 3. Conteúdo fenólico total (CFT) (g de ácido gálico/kg de peso fresco), Capacidade antioxidante total (CAT) (g equivalentes de ácido ascórbico/kg de peso fresco) e teor de flavonóides totais (TFT) (g de rutina/kg de peso fresco) em 12 espécies de flores comestíveis.	18
Tabela 4. Valores de Humidade, pH e Acidez titulável para as amostras analisadas. ...	38
Tabela 5. Concentrações de ácido ascórbico e carotenóides totais para as amostras analisadas.	41
Tabela 6. Composição centesimal das amostras analisadas.	43
Tabela 7. Valores de EC ₅₀ encontrados para a análise de DPPH	50
Tabela 8. Valores de EC ₅₀ encontrados para a análise de Poder Redutor	52
Tabela 9. Valores de correlação encontrados entre os diferentes parâmetros analisados nos diversos constituintes da abóbora	53
Tabela 10. Coeficientes das componentes principais	54

Capítulo 1

INTRODUÇÃO GERAL E OBJETIVOS DO TRABALHO

1. INTRODUÇÃO GERAL E OBJETIVOS DO TRABALHO

A abóbora compreende um total de 27 espécies conhecidas, tendo por nome científico *Cucurbita* spp., pertencendo à Família das *Cucurbitaceae* (CPRA, 2014). O fruto tem muitos vincos uniformemente distribuídos a partir do tronco para a base e possui uma casca espessa, com polpa e sementes no seu interior (AHAMED *et al.*, 2011; SILVA & SILVA, 2012) (Figura 1).



Figura 1. Exemplos de variedades de Abóbora (RAMOS *et al.*, 2010).

As variedades de abóbora mais cultivadas em Portugal são a Frade (*Cucurbita moschata* Duchesne), a abóbora Porqueira (*Cucurbita pepo* Linnaeus, onde também se inclui a aboborinha/”courgette”), e a abóbora Menina (*Cucurbita maxima* Duchesne) (MARREIROS & ROSA, 2011).

O período de produção desse vegetal vai de abril a julho, podendo ser comercializado até fevereiro do ano seguinte (MAMAOT, 2012).

A abóbora é uma planta monoica, ou seja, possui flores masculinas e femininas na mesma planta. As flores femininas distinguem-se por um pequeno ovário na base das suas pétalas, suportadas por uma pequena haste e são elas que dão origem ao fruto. Já as flores masculinas são suportadas num pedúnculo maior (VILLALTA *et al.*, 2004) (Figura 2). Estas flores comestíveis, brilhantes e coloridas possuem uma vida extremamente curta e podem estar abertas por um tempo tão reduzido como um dia. A cor das abóboras é proveniente dos pigmentos alaranjados presentes nessas flores (AHAMED *et al.*, 2011).



Figura 2. Flores de Abóbora

A abóbora é um vegetal muito popular em muitos países tropicais e subtropicais, possuindo um elevado teor de vitamina A, que é capaz de inibir a ação de radicais livres no organismo resultado da sua atividade antioxidante, propriedade que reduz os riscos de cancro, arteriosclerose e desordens coronárias, sendo assim considerado um fruto de grande importância, muito versátil em relação ao seu uso na culinária, tendo a vantagem sobre outros vegetais de poder ser armazenada até seis meses antes de ser consumida (AHAMED *et al.*, 2011; SILVA & SILVA, 2012).

Contudo, a abóbora não é utilizada com grande frequência na indústria alimentar, sendo o fruto geralmente vendido em fresco para servir de base para sopas, intensificador de sabor em diversos pratos e na elaboração de doces (SANT'ANNA, 2005). Já as

sementes de abóbora (descascadas) são muito apreciadas como aperitivo. Além disso, em algumas zonas de Portugal, as flores são consumidas após fritura com polme.

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo a caracterização química e antioxidante da semente, germinados, flores, fruto e folha desenvolvida de abóbora (*Cucurbita pepo* L.), sendo os objetivos específicos os seguintes:

- Germinação das sementes de abóbora em laboratório;
- Cultivo da abóbora em estufa;
- Proceder a caracterização química da semente, germinados, flores, fruto e folha desenvolvida de abóbora (*Cucurbita pepo* L.) quanto aos seguintes requisitos:
 - pH;
 - Acidez titulável;
 - Açúcares totais;
 - Teor de humidade;
 - Teor em cinzas;
 - Teor em gordura;
 - Teor em fibras;
 - Teor em proteínas
 - Concentração em ácido ascórbico;
 - Conteúdo total de carotenóides.
- Proceder a caracterização antioxidante da semente, germinados, flores, fruto e folha desenvolvida de abóbora (*Cucurbita pepo* L.) quanto aos seguintes pontos:
 - Teor em compostos fenólicos totais ou capacidade redutora total;
 - Efeito Bloqueador de Radicais Livres de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH);
 - Poder Redutor

De forma a apresentar uma melhor organização do trabalho e dos resultados obtidos, a presente dissertação está dividida em seis capítulos, designadamente:

Capítulo 1: Introdução geral e objetivos do trabalho.

Capítulo 2: Revisão Bibliográfica.

Capítulo 3: Materiais e Métodos.

Capítulo 4: Resultados e Discussão.

Capítulo 5: Conclusão.

Capítulo 6: Referências.

Capítulo 2

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E NUTRICIONAL DOS DIFERENTES CONSTITUINTES DA ABÓBORA

A abóbora é um alimento que vai de encontro às exigências de uma alimentação saudável, sendo muito apreciada pelos consumidores pelo seu sabor suave e o seu elevado valor nutritivo. Destaca-se pela sua importância como fonte de pectina, sais minerais, α - e β -caroteno, luteína, vitaminas A e C, fibras e minerais, bem como compostos fenólicos e outros componentes benéficos para a saúde humana. São também atribuídas à abóbora outras funções bioativas, como antidiabética, anti-hipertensiva, antibacteriana e antioxidante (ZHOU *et al.*, 2014).

Como pode ser observado na Tabela 1, onde estão apresentados os constituintes principais da abóbora, a semente possui o maior valor calórico de entre as partes analisadas, enquanto a folha possui um maior teor de fibras e proteínas e também de cálcio, magnésio e ferro. Em termos gerais, as folhas e sementes possuem um maior valor nutricional do que o próprio fruto da abóbora.

No âmbito comercial, a composição química da abóbora assume um papel de relevante importância porque a dureza da polpa interfere diretamente nas características finais dos produtos processados. Essa dureza é influenciada diretamente pela quantidade de amido e de sólidos solúveis presentes na polpa, e devido ao facto da conversão do amido em açúcares aumentar durante o período de armazenamento. Desse modo, os frutos recentemente colhidos são os preferidos para processamento por apresentarem uma textura menos mole (CARMO, 2009).

Tabela 1. Composição nutricional das partes constituintes da abóbora.

Componente	Polpa do Fruto	Sementes	Folhas
Valor calórico (kcal)	325,58	406,91	336,57
Proteína (g/100g)	13,95	19,18	27,33
Lípidos (g/100g)	Tr*	3,03	3,53
Hidratos de carbono (g/100g)	76,74	75,73	48,87
Fibra alimentar (mg/100g)	27,91	21,66	38,93
Cinzas (mg/100g)	10,47	2,06	20,27
Cálcio (mg/100g)	209,30	130,00	2013,33
Magnésio (mg/100g)	209,30	483,00	1000,00
Manganês (mg/100g)	2,56	8,90	-
Fósforo (mg/100g)	604,65	1090,00	226,67
Ferro (mg/100g)	9,30	10,90	29,20
Sódio (mg/100g)	Tr	38,00	80,00
Potássio (mg/100g)	8162,79	982,00	2453,33
Cobre (mg/100g)	1,40	1,70	1,27
Zinco (mg/100g)	6,98	8,20	4,13

*Tr = Traços.

(NEPA (2006); EL-ADAWY & TAHA (2001); EL-SOUKKARY (2001); SANT'ANNA (2005); GUPTA *et al.* (2005))

2.1.1 SEMENTES DE ABÓBORA

As sementes de abóbora apresentam uma coloração branca-amarelada, possuem formato oval, são achatadas e mais afiladas em uma de suas extremidades (Figura 3) e são consideradas como uma boa fonte de proteína e de gordura, possibilitando o seu uso no enriquecimento de alimentos (MANSOUR *et al.*, 1999; CAMEZ, 2000; ELSOUKKARY, 2001 *apud* SANT'ANNA, 2005).



Figura 3. Sementes de Abóbora

Dessa forma, as sementes de abóbora têm vindo a ser valorizadas devido ao seu valor nutricional, sendo uma boa fonte de potássio, fósforo e magnésio, contendo também quantidades significativas de outros minerais como cálcio, sódio, manganês, ferro, zinco e cobre (LAZOS, 1986).

As curcubitáceas possuem frutos carnosos, aos quais se aconselha um tempo maior entre a colheita e a abertura desses frutos para extração das sementes, pois essas continuam a se desenvolver no interior do fruto, atingindo seu ponto de maturidade fisiológica dentro do fruto, apresentando as sementes nesse ponto a melhor qualidade (VIDAL, 2007).

Essas sementes são popularmente consumidas na forma de snack em vários países, podendo ser cruas ou torradas, salgadas ou doces, e também são utilizadas como ingrediente na produção de pães, bolos e até mesmo de saladas. Além disso, o óleo de semente de abóbora tem grande aceitação, não só como óleo comestível, mas também como nutracêutico (XANTHOPOULOU *et al.*, 2009).

As sementes de abóbora possuem fitoesteróis do tipo lignana. A estes compostos estão atribuídas diversas propriedades, tais como a redução do colesterol, prevenção de alguns tipos de cancro e no aumento da imunidade corporal (SANT'ANNA, 2005). Num estudo realizado por PHILIPS *et al.* (2005), onde se analisaram esses compostos presentes em várias sementes consumidas nos Estados Unidos da América, foram encontrados 265 mg/100g de fitoesteróis totais em sementes de abóbora, sendo esse resultado semelhante ao encontrado para as sementes de girassol e linhaça, sendo que a linhaça é a semente mais rica em fitoesteróis conhecida.

Além das propriedades acima indicadas, é também atribuída às sementes de abóbora uma ação anti-helmíntica, devido a um composto chamado cucurbitacina, o que explica o uso das sementes de abóbora na medicina popular como vermífugo. Em estudos realizados com animais infetados, o consumo de sementes de abóbora apresentou resultados benéficos em relação a esse problema (CRUZ *et al.*, 2006 *apud* NAVES *et al.*, 2010; SANT'ANNA, 2005).

Embora várias partes do mundo consumam as sementes de abóbora com grande frequência, esse aproveitamento representa ainda apenas uma pequena porção das sementes desperdiçadas na globalidade, sendo que para minimizar esse desperdício e agregar valor económico a esse produto, será necessário utilizar com maior frequência essas sementes à escala industrial (NAVES *et al.*, 2010).

2.1.2 GERMINADOS

As sementes de abóbora possuem uma temperatura ótima de germinação entre os 20 e 25 °C, sendo que à medida que a temperatura aumenta a germinação tende a ocorrer de forma mais rápida e uniforme. Temperaturas abaixo dos 10 °C inibem o seu desenvolvimento, sendo que a duração da germinação (aparecimento da radícula) é de 4 a 8 dias (PAKSOY & AYDIN, 2004; RAMOS *et al.*, 2010).

Recomenda-se, para condições de campo, que a sementeira dessas sementes tenha início no verão, desenvolvendo-se bem a abóbora em condições de luminosidade elevadas. O período de vegetação é de aproximadamente 100 dias. As sementes desenvolvem-se melhor em solos profundos, bem drenados e com alta quantidade de compostos orgânicos e minerais. O pH do solo mais indicado é próximo da neutralidade, entre 6 e 7, e geralmente devem ser utilizados métodos de irrigação (PAKSOY & AYDIN, 2004; RAMOS *et al.*, 2010).

De maneira geral, os brotos ou germinados são alimentos muito nutritivos principalmente devido a não utilização de nenhum tipo de fertilizante agrícola durante a sua produção, sendo assim produtos totalmente naturais que utilizam unicamente as reservas armazenadas nas sementes para germinarem e atingirem o tamanho necessário para o seu consumo. São fontes de minerais, vitaminas, proteínas e possuem um baixo valor calórico. O feijão “moyashi”, conhecido como feijão mungo é a espécie mais utilizada para a produção de germinados no Brasil, sendo usado principalmente na

confeção de pratos orientais, além de mais outras 30 espécies de plantas, principalmente hortaliças olerícolas, como brócolos, rabanete, cebola, mostarda, entre outras (OLIVEIRA, 2015).

Para um bom rendimento, as sementes devem, principalmente, ter boa qualidade, com alta pureza física, e não estarem contaminadas com sementes de outras espécies. Para garantir a qualidade do produto são necessárias sementes com alto poder germinativo. Tem sido observado para a proporção semente/germinado, que normalmente um quilograma de sementes produz 5 a 12 quilogramas de germinados, variando com a espécie utilizada (OLIVEIRA, 2015).

Recentemente têm sido realizados estudos em germinados de vegetais, tais como brócolos (*Brassica oleracea* L.) (JANG *et al.*, 2015), rabanete (*Raphanus sativus* L.) (MATERA *et al.*, 2015) e variedades de *Brassica oleracea* L. (VALE *et al.*, 2014), que têm demonstrado propriedades antioxidantes interessantes. Contudo, até ao momento, do nosso conhecimento nenhum estudo em germinados de abóbora foi realizado.

2.1.3 FOLHAS DE ABÓBORA

A folha é o órgão da planta onde ocorre a fotossíntese. Devido a isso, possui pigmentação verde, a clorofila, que tem a capacidade de reter energia luminosa, que é utilizada na síntese de material orgânico, a partir de substâncias inorgânicas, como água e dióxido de carbono. As folhas possuem um sistema de nervuras que se formam a partir de vasos que tem a função de transportar a água absorvida do solo para a planta (PIEKARSKI, 2009).

As plantas de abóbora produzem ramos rasteiras que podem chegar a 6 metros de comprimento. Essas plantas formam estruturas para fixação nos suportes que são as gavinhas, e as ramos em contacto com o solo formam raízes que auxiliam na sua fixação. As folhas são grandes e de cor verde-escura com manchas prateadas em algumas variedades. As condições climáticas para o bom desenvolvimento vegetativo e frutificação incluem uma temperatura amena a quente, e boa disponibilidade de água durante todo o ciclo (PIEKARSKI, 2009). Os principais vegetais do gênero *Cucurbita* e suas respectivas folhas estão representados na Figura 4.

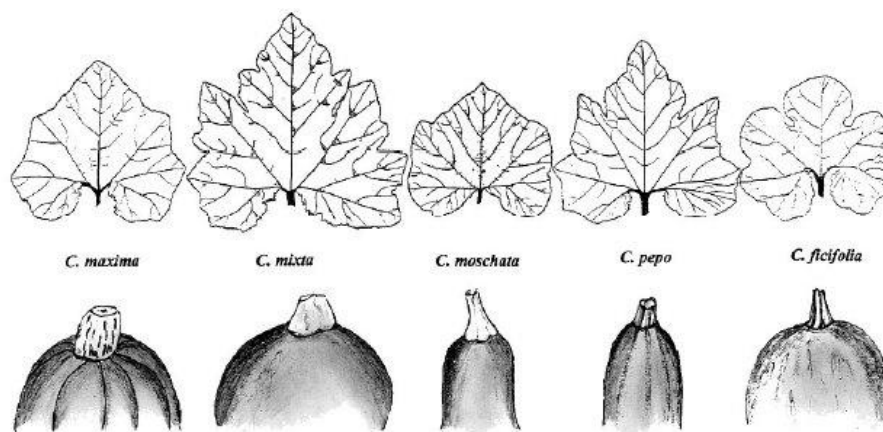


Figura 4. Representação das folhas dos principais gêneros de Cucurbita.

As folhas verdes de vegetais, conhecidas internacionalmente como *Green Leave Vegetables* (GLV), foram foco de vários estudos realizados na Nigéria (BARMINAS *et al.*, 1998), Índia (GUPTA *et al.*, 2005), Camarões (EJOH *et al.*, 2007), entre outros, com o intuito principal de encontrar soluções para manter o equilíbrio entre o crescimento populacional e a produtividade agrícola mundial. Essa preocupação prevalece nas áreas tropicais e subtropicais do mundo. De um modo geral, as GLV são ricas em vitaminas, tais como β -caroteno (precursor (forma inativa) da vitamina A), ácido ascórbico, ácido fólico e riboflavina, bem como sais minerais, tais como ferro, cálcio e fósforo, possuindo também um alto teor em fibra (GUPTA *et al.*, 2005). No entanto, essas folhas podem apresentar problemas, como a presença de componentes tóxicos ou antinutricionais, como por exemplo nitratos, oxalatos e saponinas, bem como fitatos e taninos que são inibidores de proteases, agindo como complexantes naturais (PIEKARSKI, 2009), impedindo o seu consumo.

Segundo o estudo realizado por PIEKARSKI (2009), que efetuou a caracterização físico-química e mineral de folhas de abóbora, a folha de abóbora em pó apresentou valores interessantes quanto ao teor de proteínas (26,70 g/100g) e fibra dietética (32,75 g/100g). Obteve também um bom resultado para o conteúdo de minerais presentes na folha, com destaque para o cálcio (3564,67 mg/100g), apresentando valores também significativos para o magnésio, ferro, fósforo e zinco.

De nosso conhecimento, ainda não existem estudos realizados quanto à atividade antioxidante de folhas de abóbora.

2.1.4 FLORES DE ABÓBORA

Durante muitos séculos as flores comestíveis vêm fazendo parte da alimentação humana e têm vindo a ser descritas na literatura. Na Europa Central, por exemplo, flores de dente de leão eram cozidas com açúcar, além de diversas flores serem utilizadas para decorar alimentos preparados para a nobreza (ROP *et al.*, 2012). Hoje em dia a quantidade de flores comestíveis engloba dezenas de inflorescências que diferem na cor, sabor e formato, e são utilizadas com o intuito de melhorar a aparência e a qualidade nutritiva de pratos, como sopas, saladas, sobremesas e até mesmo bebidas (KELLEY *et al.*, 2001).

De entre as várias razões pelas quais o interesse por flores comestíveis tem aumentado, se destaca o desejo do consumidor por estilos de vida do passado, onde as flores comestíveis tinham já grande destaque, sendo a China e o Japão bons exemplos desse costume (ROP *et al.*, 2012). Um outro motivo do aumento observado no seu consumo prende-se com a publicação de dados recentes sobre o adequado perfil nutricional de diversas variedades de flores (MLCEK & ROP, 2011).

As flores comestíveis provêm de árvores de fruto e plantas medicinais e ornamentais (KELLEY *et al.*, 2001). As flores comestíveis podem ser usadas frescas ou processadas, tais como, secas, fritas, com polme, e também recheadas. Algumas variedades podem ser cristalizadas, colocadas em cubos de gelo para servir com bebidas, e utilizadas na elaboração de geleias e compotas, entre outras aplicações (LAUDERDALE & BRADLEY, s/d).

A comercialização de flores comestíveis está normalmente voltada para um tipo específico de consumidor, geralmente clientes de restaurantes de luxo, que podem pagar pelas flores que são relativamente caras. No entanto, também podem ser encontradas em lojas de especiarias e de produtos gourmet. As flores podem ser vendidas em tabuleiros ou em outros tipos de embalagens (VILLALTA *et al.*, 2004).

Nas flores comestíveis é de suma importância que se conheça a sua composição nutricional e físico-química. Em relação à composição nutricional, há diferenças entre variedades de uma dada flor. Contudo, a água é sempre o seu principal componente, em média com 80%. Os conteúdos de proteína e gordura são baixos, possuindo diferentes teores de hidratos de carbono totais, fibras e minerais, tal como pode ser observado na Tabela 2. A presença de compostos bioativos e óleos essenciais também proporcionam às flores uma grande variedade de propriedades funcionais (NAVARRO *et al.*, 2015).

Tabela 2. Composição nutricional de diferentes flores comestíveis (%).

Parâmetro	Capuchinha <i>Tropaeolum majus</i>	Cravo-da-Índia <i>Tagetes erecta</i>	Jambu <i>Spilanthes oleracea</i>
Água	89,32±0,16 ^a	83,39±0,17 ^b	81,74±0,13 ^c
Hidratos de Carbono	7,14±0,87 ^c	14,15±1,24 ^a	13,56±0,79 ^b
Fibra dietética total	4,51±0,52 ^b	9,20±0,04 ^a	10,11±0,41 ^a
Proteína	1,99±0,06 ^b	1,32±0,01 ^b	2,84±0,11 ^a
Gordura	0,33±0,03 ^a	0,32±0,02 ^a	0,41±0,03 ^a
Cinzas	0,63±0,01 ^c	0,80±0,05 ^b	1,44±0,02 ^a
Valor energético* (kcal/100g)	21,44±0,89 ^b	28,02±1,1 ^a	28,84±1,20 ^a

Os dados estão expressos em percentagem de peso fresco (média ± desvio padrão). Valores com letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes entre si ($p < 0,05$) (NAVARRO *et al.*, 2015).

* Os valores energéticos estão expressos em kcal/100g.

No caso particular das flores de abóbora, estas possuem coloração amarela, um formato que lembra um sino e possuem aproximadamente 12 cm de comprimento. A abóbora é um fruto abundante e de fácil cultivo, e as suas flores e germinados jovens são muito consumidos como vegetais (VILLASEÑOR *et al.*, 1996).

As flores de cucurbitáceas abrem-se no início da manhã e apenas uma vez por dia, característica que influencia a colheita dessas flores, uma vez que a maioria das receitas requer o uso de flores abertas. Recomenda-se também que as flores sejam colhidas no dia que serão consumidas. Porém, isso limita as possibilidades de comercialização (VILLALTA *et al.*, 2004).

Poucos estudos até ao momento foram realizados em flores de abóbora. Contudo, no estudo realizado por SEROCZYŃSKA *et al.* (2006), em *Cucurbita maxima* Duch. ou abóbora menina, verificou-se que o teor de carotenóides totais, assim como o de β -caroteno, foi cerca de duas vezes superior nas flores do que na polpa dos frutos. A medição de cor também apresentou grandes diferenças de valores entre flores e frutos. Diversos carotenóides, designadamente, zeaxantina, β -criptoxantina, luteína, anteraxantina, β -caroteno e violaxantina, foram já identificados em flores de abóbora Menina (MUNTEAN & ROSCA, 2002). Além destes, foram também detetados em menor concentração a luteína-5,6-epóxido, α -criptoxantina e os isómeros *cis* do β -caroteno e β -criptoxantina (MUNTEAN & ROSCA, 2002). ITOKAWA *et al.* (1981) já conseguiram isolar dois flavonóis glicosilados na *Cucurbita pepo* L. (abóbora Porqueira), nomeadamente a ramnazina-3-rutinósido e a isoramnetina-3-rutinósido-4'-ramnósido.

2.2 TECNOLOGIAS DE PÓS-COLHEITA UTILIZADAS NA CONSERVAÇÃO DE FLORES COMESTÍVEIS

Devido à grande importância econômica das flores de corte, muitos trabalhos foram desenvolvidos para encontrar formas de aumentar o tempo de pós-colheita das mesmas. Em contrapartida, poucos estudos foram realizados até ao momento visando a conservação de flores comestíveis. Devido à toxicidade de alguns compostos vulgarmente utilizados na indústria de flores de corte, estes não podem ser utilizados nas flores comestíveis pelo risco que esses mesmos produtos oferecem à saúde dos consumidores (VILLALTA *et al.*, 2004).

A atenção dada às flores comestíveis ainda não é a mesma da dos vegetais e frutas frescas, devido à sua baixa produção e mercado mais particularizado. Até ao momento ainda não foram estabelecidas diretrizes para a conservação de pós-colheita dessas flores, e há um número reduzido de publicações sobre os fatores que definitivamente limitam a sua qualidade (KOU *et al.*, 2012). Porém, sabe-se que a temperatura é um dos principais parâmetros que limita a vida de prateleira dos produtos de origem vegetal, podendo ajudar no processo de conservação de pós-colheita de flores comestíveis. No entanto, devido à grande sensibilidade, muitas dessas flores podem sofrer danos pelo frio (KELLEY *et al.*, 2003).

Num estudo realizado por KELLEY *et al.* (2003), ao analisar cinco variedades diferentes de flores comestíveis, designadamente, *Viola tricolor* L., *Viola wittrockiana* L., *Tropaeolum majus* L., *Borago officinalis* L. e *Phaseolus coccineus*, após terem sido armazenadas em sacos de polietileno de baixa densidade e temperaturas entre os -2,5 e 20 °C por um período de 2 semanas, sinais de necrose, colapso de tecidos e desenvolvimento de fungos foram fenómenos observados.

VILLALTA *et al.* (2004), ao estudar flores de *Cucurbita pepo* L. armazenadas em embalagens de polipropileno, a temperaturas de 2,5 a 5 °C, verificaram que as flores mantiveram uma boa aparência durante 7 dias. Embora esse período já seja significativo, ainda é um tempo muito curto, continuando a sua comercialização a ser restrita.

KOU *et al.* (2012) recomenda que as flores comestíveis sejam consumidas no prazo de 2 a 5 dias após a sua colheita, o que torna necessário o transporte aéreo para que o produto consiga chegar à maioria das regiões consumidoras, fazendo com que o preço se torne muito elevado. Aumentar o tempo de prateleira dessas flores resultaria em

benefícios económicos, incluindo a redução de desperdícios do produto e de custos de transporte, com a possibilidade de se poder praticar o transporte terrestre, o que tornaria a escolha deste produto muito mais atraente para restaurantes e consumidores em geral (KOU *et al.*, 2012).

O uso de atmosferas controladas (AC) também já tem sido abordado. No trabalho realizado por BOLAÑOS *et al.* (2013), vários parâmetros físico-químicos e compostos antioxidantes em flores de *Cucurbita pepo* mantidas em atmosfera controlada foram já analisados. Flores masculinas foram armazenadas a 5 °C, sob um fluxo contínuo de gás, com uma de quatro composições, designadamente: 5% de O₂ + N₂ (AC1); 5% de O₂ + 10% de N₂ + CO₂ (AC2); 10% de CO₂ + ar (AC3); tendo o armazenamento em ar como controlo. Em comparação com o controlo, nos tratamentos de AC observou-se uma maior retenção de açúcares totais, sólidos solúveis totais, pH e acidez titulável, bem como menores perdas de peso. Aos 16 dias de armazenamento, a AC2 reteve a maior quantidade de ácido ascórbico (49,5%), polifenóis (65,2%) e carotenóides (72,8%), permitindo a AC2 ou AC3 prolongar o tempo de prateleira das flores de abóbora.

2.3 PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES

A atividade antioxidante, por definição, é a capacidade que um composto possui para inibir a degradação oxidativa de algum elemento, como por exemplo, a oxidação lipídica (rancificação) (ROGINSKY & LISSI, 2005).

Os compostos fenólicos são os principais compostos antioxidantes presentes nos alimentos, encontrando-se amplamente distribuídos nas plantas e abrangendo pelo menos 8000 estruturas diferentes conhecidas (CHARLES, 2013). Os tocoferóis (vitamina E) e os polifenóis solúveis em água são os mais encontrados em produtos como frutas, vegetais, chá, café e vinho (ROGINSKY & LISSI, 2005).

Os antioxidantes retardam a velocidade da oxidação através de mecanismos como inibição de radicais livres e complexação de metais. Podem ser naturais ou sintéticos e estes para serem utilizados em alimentos devem apresentar-se como sendo seguros para a saúde. De entre os antioxidantes naturais, os que mais se destacam são o ácido ascórbico, vitamina E e o β -caroteno. Já em relação aos sintéticos, os mais importantes são o hidroxianisol de butilo (BHA) e o hidroxitolueno de butilo (BHT) (DUARTE-ALMEIDA *et al.*, 2006). Contudo, efeitos tóxicos e cancerígenos foram detetados nos

antioxidantes sintéticos, fazendo com que surgisse um interesse cada vez maior pela procura de antioxidantes naturais (ALIAKBARLU & TAJIK, 2012), especialmente compostos fenólicos.

Em consequência disso, nos últimos anos, a identificação de plantas com capacidade antioxidante e que possam ser utilizadas para consumo humano tem ganho grande atenção por parte dos investigadores (KAUR *et al.*, 2006). Os antioxidantes podem ser encontrados em todas as partes da planta, incluindo a flor, a qual contém uma grande variedade de antioxidantes naturais, tais como ácidos fenólicos, flavonóides e antocianinas, entre outros compostos fenólicos (KAISOON *et al.*, 2012).

No estudo realizado por LI *et al.* (2014), onde foram analisadas 51 flores comestíveis diferentes, pôde-se observar uma relação entre a capacidade antioxidante e o teor de compostos fenólicos totais, indicando que esses compostos são os principais responsáveis pela capacidade antioxidante das flores. Tais resultados indicam o grande potencial que as flores comestíveis têm como antioxidantes naturais, podendo então ser utilizadas como ingredientes no desenvolvimento de alimentos funcionais e de produtos farmacêuticos para prevenção e tratamento de doenças causadas por stress oxidativo.

Na Tabela 3 encontram-se descritos alguns dados dos teores em fenóis totais determinados pelo método de Folin-Ciocalteau (CFT), da capacidade antioxidante total avaliada pela capacidade bloqueadora dos radicais livres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) (CAT) e do teor de flavonóides totais (TFT), determinados em 12 flores comestíveis diferentes.

Contudo, até ao momento, poucos estudos foram realizados sobre a atividade antioxidante de flores de abóbora. TARHAN *et al.* (2007) avaliaram propriedades antioxidantes *in vitro* de diferentes extratos (acetato de etilo:água, 17:3; etanol; água) de flores masculinas e femininas da variedade *Cucurbita pepo* L., pelos métodos de efeito bloqueador dos radicais livres DPPH e hidroxilo, Poder Redutor, capacidade antioxidante total pelo método do tiocianato e o conteúdo em fenóis totais avaliado pelo método Azul da Prússia. Estes autores verificaram que a extração com acetato de etilo:água (17:3) a 25 °C, 15 minutos, foi a que originou extratos com maior atividade antioxidante em termos de capacidade bloqueadora dos radicais livres DPPH e hidroxilo, bem como em conteúdo de fenóis totais. Além disso, as flores femininas apresentaram maior atividade antioxidante do que as masculinas. Esses resultados indicam que as flores de abóbora podem ser uma fonte interessante de compostos bioativos, sugerindo o seu estudo no futuro.

Tabela 3. Conteúdo fenólico total (CFT) (g de ácido gálico/kg de peso fresco), Capacidade antioxidante total (CAT) (g equivalentes de ácido ascórbico/kg de peso fresco) e teor de flavonóides totais (TFT) (g de rutina/kg de peso fresco) em 12 espécies de flores comestíveis.

Espécies	CFT	CAT	TFT
<i>Antirrhinum majus</i>	3,49 ± 0,21 ^a	5,06 ± 0,24 ^a	1,78 ± 0,18 ^a
<i>Begoni boliviensis</i>	4,92 ± 0,16 ^b	6,80 ± 0,29 ^b	1,84 ± 0,20 ^a
<i>Centaurea cyanus</i>	4,76 ± 0,27 ^b	6,81 ± 0,26 ^b	1,81 ± 0,21 ^a
<i>Chrysanthemum frutescens</i>	2,53 ± 0,25 ^c	4,24 ± 0,30 ^c	1,23 ± 0,17 ^b
<i>Chrysanthemum parthenium</i>	2,72 ± 0,27 ^c	4,21 ± 0,31 ^c	1,29 ± 0,20 ^b
<i>Dianthus caryophyllus</i>	5,28 ± 0,41 ^b	6,96 ± 0,39 ^b	2,27 ± 0,20
<i>Fuchsia</i> × <i>hybrida</i>	3,45 ± 0,30 ^a	5,20 ± 0,21 ^a	1,66 ± 0,21 ^{ab}
<i>Impatiens walleriana</i>	4,85 ± 0,28 ^b	6,89 ± 0,36 ^b	1,93 ± 0,18 ^{ab}
<i>Rosa odorata</i>	5,02 ± 0,34 ^b	6,95 ± 0,38 ^b	2,04 ± 0,19 ^{ac}
<i>Tagetes patula</i>	4,58 ± 0,40 ^b	6,70 ± 0,37 ^b	1,90 ± 0,22 ^{ac}
<i>Tropaeolum majus</i>	3,31 ± 0,29 ^a	5,12 ± 0,20 ^a	1,35 ± 0,17 ^b
<i>Viola</i> × <i>wittrockina</i>	5,11 ± 0,37 ^b	6,65 ± 0,97 ^b	1,99 ± 0,23 ^{ab}

Diferentes letras em cada coluna indicam diferenças significativas (p<0,05).

Fonte: ROP *et al.* (2012).

De entre os antioxidantes naturais, os mais estudados são os carotenóides (β-caroteno) e os tocoferóis (vitamina E) que são lipossolúveis, e o ácido ascórbico (vitamina C) que é hidrossolúvel, bem como os compostos bioativos encontrados em plantas, como os flavonóides e o licopeno (SANT'ANNA, 2005). Especificamente nesse trabalho foram investigados os teores de carotenóides e ácido ascórbico.

2.3.1 Carotenóides

Os carotenóides são um dos maiores grupos de pigmentos encontrados na natureza, com mais de 600 compostos diferentes identificados. A composição dos carotenóides em alimentos varia muito, influenciada desde a prática de produção, manuseio pós colheita, processamento e armazenamento dos produtos (NAMITHA & NEGI, 2010).

Embora a atividade de provitamina A seja a principal função dos carotenóides, a potente atividade antioxidante dos carotenóides tem desempenhado um papel importante na prevenção de certos tipos de cancro, doenças cardiovasculares e degeneração muscular (SAINI *et al.*, 2015).

A maior parte dos carotenóides são derivados de uma cadeia de 40 carbonos que pode ser considerada como a espinha dorsal das moléculas (Figura 5). Esta cadeia pode ser terminada por grupos cíclicos finais e também pode ser complementada com oxigénio contendo grupos funcionais. Com base na sua estrutura química, os carotenóides são classificados em dois grupos: os hidrocarbonetos vulgarmente conhecidos como carotenos, e as xantofilas, os derivados oxigenados destes hidrocarbonetos (NAMITHA & NEGI, 2010).

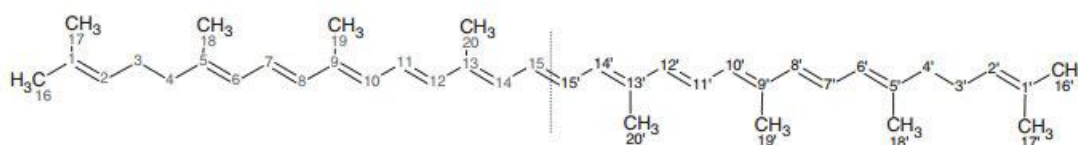


Figura 5. Estrutura do carotenóide com numeração comum (NAMITHA & NEGI, 2010).

Os carotenóides são nomeados a partir dos derivados desse composto base (Figura 5), onde letras gregas são utilizadas para descrever os grupos terminais da estrutura no sistema IUPAC. As estruturas de alguns carotenóides com esta nomenclatura são mostrados na Figura 6 (NAMITHA & NEGI, 2010).

Tendo como base os grupos funcionais, os carotenóides podem ser classificados em dois grupos: o das xantofilas, contendo oxigénio, como grupo funcional, incluindo a luteína e zeaxantina; e o dos carotenos, contendo apenas a cadeia do hidrocarboneto base sem qualquer grupo funcional, tais como o α -caroteno, β -caroteno e o licopeno (SAINI *et al.*, 2015).

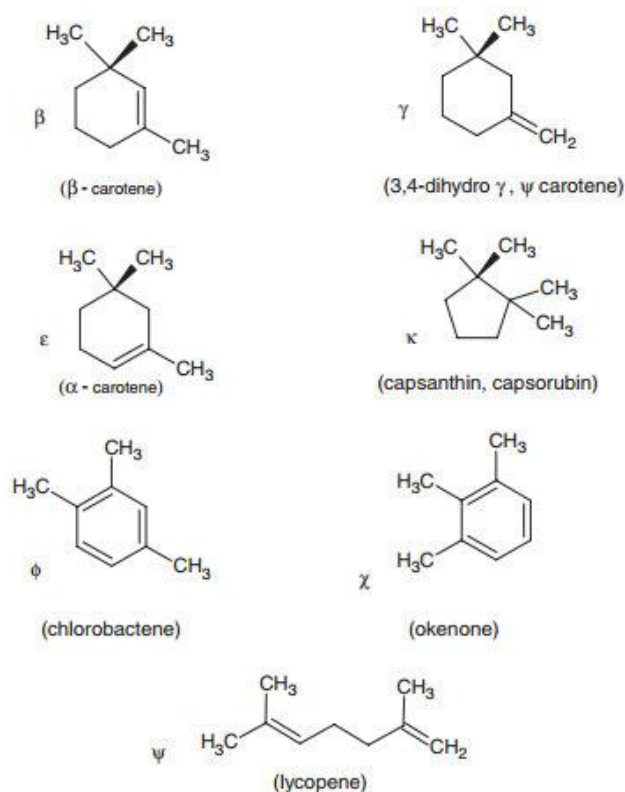


Figura 6. Grupos terminais de carotenóides (os nomes dos carotenóides escritos são exemplos de carotenóides em alimentos) (NAMITHA & NEGI, 2010).

Os carotenóides possuem propriedades espectrofotométricas e dependendo da configuração e comprimento do cromóforo (conjunto de átomos da molécula responsável pela sua cor), o espectro no visível e no ultravioleta muda (e, em seguida, as cores) (ESTEBAN *et al.*, 2015).

2.3.2 Vitamina C

Vitamina C é o nome comum dado ao ácido 2,3-enediol-L-gulónico, o ácido ascórbico, que é um poderoso antioxidante. As moléculas do ácido ascórbico sofrem oxidação antes que outras moléculas se oxidem, impedindo e protegendo essas outras moléculas da oxidação. O nome "ascórbico" provém do prefixo a- (que significa "não") e da palavra latina scorbuticus (escorbuto), uma doença causada pela deficiência de vitamina C (PEREIRA, 2008).

A fórmula química do ácido ascórbico é $C_6H_8O_6$, e a sua estrutura está representada na Figura 7.

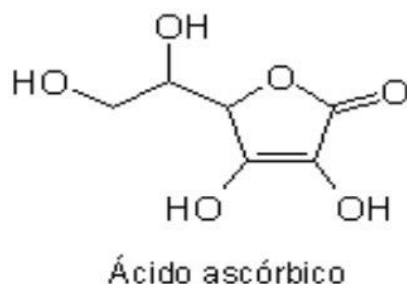


Figura 7. Estrutura molecular do ácido ascórbico (PEREIRA, 2008).

O ácido ascórbico é uma vitamina hidrossolúvel, incapaz de ser sintetizada pelos seres humanos, sendo assim, a dose recomendada para manutenção de nível de saturação da vitamina C no organismo é de cerca de 100 mg por dia para organismos saudáveis, em outros casos como organismos com infecções, gravidez e tabagismo, doses maiores são necessárias. O ácido ascórbico participa dos processos celulares de oxirredução, é necessário na defesa do organismo contra infecções e na formação das paredes dos vasos sanguíneos. Tem um papel importante na formação das fibras de colagénio existentes em praticamente todos os tecidos do corpo humano (derme, cartilagem e ossos) (MANELA-AZULAY *et al.*, 2003).

Capítulo 3

MATERIAIS E MÉTODOS

3. MATERIAIS E MÉTODOS

As sementes utilizadas neste trabalho foram adquiridas no comércio local na cidade de Bragança, sendo que se optou pela variedade *Cucurbita pepo* L. devido ao pequeno número de estudos realizados sobre a mesma. As demais amostras (germinados, flores e folha desenvolvida) foram obtidas a partir destas sementes. Já o fruto da abóbora não foi possível obtê-lo dessa forma, tendo este sido adquirido a um produtor local que cultivava essa mesma variedade.

Em relação às análises químicas e antioxidantes, todas foram realizadas em triplicado para posteriormente se efetuar a análise estatística aos resultados obtidos.

3.1 GERMINAÇÃO DAS SEMENTES E CULTIVO DA ABÓBORA

A germinação das sementes foi realizada em duas etapas. Na primeira, as sementes foram depositadas num tabuleiro contendo cerca de 3 cm de areia húmida, previamente calcinada. As sementes foram mantidas neste meio até o surgimento da radícula (entre 5 a 7 dias), tendo-se iniciado a segunda fase da experiência, onde as sementes já germinadas foram transferidas para um recipiente de vidro, previamente preparado, como se pode observar na Figura 8. Este recipiente continha água até à altura da rede que suspendia as sementes, ocorrendo assim o processo de germinação. Após aproximadamente 5 dias, já com folhas (com cerca de 15 cm) e raízes (com cerca de 10 cm) em desenvolvimento, os germinados foram retirados do recipiente. Separaram-se as folhas das raízes, pesaram-se, e armazenaram-se dentro de sacos plásticos em arca congeladora para posterior liofilização.



Figura 8. Recipiente de vidro preparado para a segunda etapa da germinação das sementes de abóbora.

Relativamente ao cultivo da abóbora, este foi realizado numa estufa, num espaço de aproximadamente 30 m². Foram abertas fendas no chão, com um espaçamento de cerca de um metro entre elas, onde foram depositadas 3 sementes em cada uma. As sementes receberam água através de um sistema de rega automática já existente na estufa, onde permaneceram até seu desenvolvimento completo e serviram de fonte para a recolha das amostras necessárias para as análises.

3.2 ANÁLISES QUÍMICAS

3.2.1 Teor de humidade e matéria seca

Os teores de humidade e de matéria seca foram determinados a partir da liofilização das amostras. As amostras foram pesadas, congeladas e em seguida colocadas num liofilizador modelo Scan CoolSafe (Vassingerod, Dinamarca) durante o tempo necessário para a eliminação total da humidade existente, que variou consoante a amostra. As amostras foram retiradas do liofilizador e pesadas novamente.

O teor de humidade foi expresso pela seguinte equação:

$$\text{Teor de humidade (\%)} = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100$$

Sendo que:

m_i = massa inicial da amostra

m_f = massa final da amostra

O teor em matéria seca foi calculado da seguinte forma:

$$\text{Teor em matéria seca (\%)} = 100 - \text{Teor de humidade(\%)}$$

3.2.2 pH e acidez titulável (AT)

A amostra foi preparada segundo o método de BOLAÑOS *et al.* (2013) e da AOAC 920.149, com algumas modificações. Pesaram-se 2 g de amostra e adicionaram-se 18 mL de água destilada. A mistura esteve em ebulição durante 1 hora, tendo o volume sido acertado periodicamente. Deixou-se arrefecer e transferiu-se a solução para um balão volumétrico de 25 mL. Posteriormente perfez-se o volume com água destilada (Solução A) e filtrou-se uma parte da solução. O valor de pH desta solução foi medido no potenciómetro (Hanna Instruments HI8417).

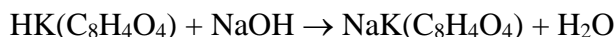
A AT foi determinada por titulação de 5 mL desta solução com NaOH 0,01 M, preparada por diluição de uma solução padronizada de NaOH 0,1 M, e utilizando fenolftaleína como indicador. A acidez titulável foi expressa em g ácido cítrico/100 g de matéria seca.

- Padronização da solução de Hidróxido de sódio (0,1 M)

Para se proceder à padronização da solução de hidróxido de sódio 0,1 M, pesaram-se aproximadamente 0,4 g de NaOH e dissolveu-se até ao volume de 100 mL, seguindo-se o procedimento com o hidrogenofteralato de potássio (JEFFERY *et al.*, 1992). O hidrogenofteralato de potássio de grau analítico tem no mínimo uma pureza igual a 99,9%, tendo sido colocado a secar a 120 °C, durante 2 horas. Deixou-se arrefecer num copo coberto dentro de um excicador, tendo-se posteriormente pesado rigorosamente três amostras deste sal, de 0,30 a 0,35 g cada uma, e colocaram-se em três erlenmeyers de 250

mL. Adicionou-se posteriormente 37,5 mL de água fervida. Agitou-se suavemente a solução até que o sólido se tivesse dissolvido. Titulou-se cada solução com a de hidróxido de sódio colocada na bureta, usando fenolftaleína como indicador e até se obter uma coloração rosa.

No cálculo da concentração molar considerou-se que a massa molar do hidrogenofталato de potássio é de 204,23 g.mol⁻¹ e que a reação química envolvida foi a seguinte:



Além disso, a variação dos resultados não deveria exceder os 0,1-0,2%.

3.2.3 Açúcares totais

No doseamento dos açúcares totais, homogeneizaram-se 2 gramas de amostra com 10 mL de etanol 80% (v/v), tendo sido a mistura mantida durante 30 minutos em banho-maria a 70 °C, tal como indicado por BARREIRA *et al.* (2010). As soluções obtidas foram posteriormente filtradas e 1 mL foram misturados com 3 mL de ácido sulfúrico concentrado. A mistura foi homogeneizada no vortex durante 30 segundos e em seguida foi arrefecida em gelo durante 2 min, tendo sido a absorvância lida a 315 nm num espectrofotómetro de ultravioleta/visível (Optic Ivymen Sistem Abbe Refractometer) (ALBALASMEH *et al.*, 2013). O teor de açúcares foi quantificado utilizando uma curva padrão de glucose (0,01- 0,06 mg/mL), sendo os resultados expressos em mg de glucose/100 g de matéria seca.

3.2.4 Teor em cinzas

Pesou-se 0,5 g da amostra para um cadinho previamente calcinado e arrefecido num exsiccador até atingir a temperatura ambiente. Em seguida inseriram-se os cadinhos com amostra numa mufla a 550 °C até que as cinzas apresentassem uma cor esbranquiçada. De seguida os cadinhos foram retirados da mufla e arrefecidos num exsiccador.

A percentagem das cinzas foi calculada pela expressão:

$$\text{Cinzas (\%)} = \left(\frac{P_2 - P_0}{P_1 - P_0} \times 100 \right)$$

Sendo:

P_0 = peso do cadinho

P_1 = peso do cadinho + amostra no início

P_2 = peso do cadinho + cinzas após calcinação

3.2.5 Teor de gordura

Pesaram-se rigorosamente balões de fundo redondo de 250 mL, previamente secos em estufa a 105 °C. Em seguida, pesaram-se 0,5 g de amostra triturada num almofariz e adicionou-se uma pequena porção de sulfato de sódio anidro.

Construiu-se um cartucho de papel de filtro e transferiu-se para o mesmo a amostra com muito cuidado. Colocaram-se os cartuchos e os balões no aparelho de Soxhlet (40-60 °C) e adicionou-se éter de petróleo para iniciar a extração. Após 24 horas foi retirado o cartucho e recuperou-se o solvente, tendo-se colocado o balão numa estufa a 50 °C até se obter peso constante.

Os resultados foram apresentados em % de gordura (g de gordura por 100 g de amostra), em base seca.

3.2.6 Teor em fibras

Para a determinação do teor em fibras, pesou-se, em triplicado, 0,25 g de amostra em copos de 400 mL. Em seguida, adicionaram-se 12,5 mL de tampão fosfato a pH 6,0 em cada copo, verificando-se o pH do meio e ajustando sempre que necessário. De seguida adicionaram-se 0,025 mL da solução enzimática de Termamil, tapou-se o copo com papel de alumínio e colocou-se em banho de água fervente (95-100 °C) durante 15 minutos, tendo-se agitado os copos cuidadosamente em intervalos de 5 minutos.

Passado esse tempo, deixaram-se as soluções arrefecer à temperatura ambiente e ajustou-se o pH a $7,5 \pm 0,2$ pela adição de uma solução de NaOH a 0,275 N. Na sequência, adicionaram-se 43,8 µL de protease e incubou-se em banho-maria a 60 °C por 30 minutos, agitando-se os copos cuidadosamente a cada 10 minutos.

Retiraram-se os copos do banho, deixando-os arrefecer até à temperatura ambiente e em seguida ajustou-se o pH novamente, para um valor de 4,0 – 4,6 com o auxílio de uma solução de HCl 0,325 M. Em seguida, adicionaram-se 75 µL de amiloglucosidase e incubou-se novamente em banho maria a 60 °C por 30 minutos, sob agitação.

Em seguida adicionou-se aos copos uma quantia de 70 mL de álcool etílico a 95% pré-aquecido a 60°C e deixou-se os copos repousar durante 60 minutos para formação do precipitado e decantação.

Para a realização dessa análise utilizaram-se cadinhos de porosidade nº 2, os quais foram calcinados em mufla a 525 °C durante uma hora e após arrefecimento. Em seguida adicionaram-se 0,5 g de celite aos mesmos e colocaram-se a secar numa estufa a 105 °C durante aproximadamente duas horas. Deixaram-se arrefecer à temperatura ambiente e pesaram-se. Encaixou-se cada um dos cadinhos num kitasato acoplado a uma bomba de vácuo. Com a sucção ligada, molhou-se a celite utilizando um esguicho com álcool etílico a 78% para redistribuí-la no fundo do cadinho.

Com a sucção ainda ligada, transferiu-se o precipitado da solução enzimática para o cadinho e lavou-se o resíduo sucessivamente com três porções de 5 mL de álcool etílico 78%, duas porções de 2,5 mL de álcool etílico 95% e duas porções de 2,5 mL de acetona, repetindo esse procedimento para todas as amostras. Deixaram-se os cadinhos contendo o resíduo durante a noite numa estufa a 105 °C.

No dia seguinte retiraram-se os cadinhos da estufa e deixaram-se arrefecer num exsiccador. De seguida, pesaram-se os mesmos.

Uma das amostras do triplicado foi incinerada durante 5 horas numa mufla a 525 °C. As outras duas foram encaminhadas para análise de proteína para poder se realizar os cálculos posteriores.

Executou-se um branco durante todo o processo juntamente com as amostras para medir qualquer contribuição dos reagentes, o qual, após passar a noite na estufa a 105 °C, pesou-se e dividiu-se em duas partes, as quais também foram pesadas, sendo uma encaminhada para a mufla juntamente com as outras amostras, e a outra para a análise de proteína, valores estes que também foram considerados nos cálculos.

A percentagem de fibras foi calculada pela seguinte expressão:

Teor em fibras

$$(\%, \text{ p.s.}) = \frac{\text{massa do resíduo} - \text{massa de proteína} - \text{massa de cinzas-branco}}{\text{massa de amostra seca}} \times 100$$

3.2.7 Teor em proteínas – Método de Kjeldahl

Pesou-se 1 g de amostra para um tubo de Kjeldahl e adicionou-se 15 mL de ácido sulfúrico concentrado e duas pastilhas de catalisador. Colocaram-se os tubos na unidade mineralizadora, e aumentou-se a temperatura progressivamente até atingir 350-400 °C durante 45 – 60 minutos, com o vácuo em funcionamento. Quando o líquido se apresentou límpido (transparente, incolor ou com coloração azul clara), o que significa que a mineralização está completa, interrompeu-se o processo, retirou-se da unidade mineralizadora e deixou-se arrefecer.

Após o arrefecimento (50-60 °C), colocaram-se os tubos com a amostra mineralizada na unidade destiladora onde se procedeu à destilação e titulação. No final do ciclo, o teor de azoto (%N) foi lido no visor do aparelho, sendo a %N multiplicada por 5,7 (fator) para se obter a % de proteína (AOAC Official Method 920.87).

3.2.8 Concentração em ácido ascórbico

A metodologia utilizada foi a descrita por MOO-HUCHIN *et al.* (2015) com algumas modificações. Três gramas de amostra foram homogeneizadas com 10 mL de ácido oxálico 0,4% e agitados em vortex durante 2 minutos. Em seguida, transferiu-se a mistura para um balão volumétrico de 50 mL e fez-se o volume também com ácido oxálico, sendo a solução posteriormente filtrada. 10 mL dessa mistura foram titulados com uma solução padrão de 2,6-dicloroindofenol, sendo a análise realizada em triplicado e os resultados expressos em mg de ácido ascórbico/100 g de matéria seca.

3.2.9 Conteúdo total de carotenóides

A metodologia aplicada foi a descrita em BOLAÑOS *et al.* (2013), com algumas modificações. Misturou-se 1 g de amostra com 20 mL de acetona:hexano (1:1, v/v), durante 1 a 2 minutos, tendo a solução sido posteriormente filtrada através de um funil de Buchner com um filtro com porosidade de 20 a 30 µm. Este procedimento foi repetido até que o filtrado ficasse incolor. A totalidade dos extratos foi colocada num funil de separação para eliminar a acetona, tendo sido adicionados 50 mL de água destilada, sem agitação, de modo a evitar a formação de emulsões, sendo a fase inferior eliminada.

Adicionaram-se 50 mL de água mais três vezes e repetiu-se o procedimento. A fase sem acetona (a superior e relativa ao hexano) foi misturada com 5 g de sulfato de sódio anidro, para eliminar qualquer água residual. Filtrou-se a solução restante e transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL, tendo-se completado o volume com hexano (RODRIGUEZ-AMAYA E KIMURA, 2004). O teor total de carotenóides foi determinado por leitura da absorvância a 450 nm e utilizando uma curva de calibração de β -caroteno (0,2-16 $\mu\text{g/ml}$ g/mL).

3.3 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada em extratos preparados segundo o descrito nas secções seguintes, tendo sido avaliado o teor em compostos fenólicos totais ou Capacidade Redutora Total através do reagente de Folin-Ciocalteu, Efeito Bloqueador de Radicais Livres de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) e Poder Redutor.

3.3.1 Preparação dos extratos

Homogenizaram-se 3 g de amostra liofilizada com 30 mL de etanol a 80% (v/v), tendo sido o extrato obtido filtrado, seguindo a metodologia descrita em BOLAÑOS *et al.* (2013). O filtrado foi colocado no evaporador rotativo e, posteriormente o balão com a solução aquosa, foi colocado a congelar para posteriormente ser liofilizado. Calculou-se o rendimento da extração (g extrato/100 g de matéria seca), tendo o extrato obtido sido redissolvido no solvente utilizado nas extrações para obter uma solução de concentração igual a 50 mg de extrato/mL. As extrações foram realizadas em triplicado para todas as amostras.

3.3.2 Teor em compostos fenólicos totais ou capacidade redutora total

Utilizou-se o reagente de Folin-Ciocalteu de acordo com o método de SINGLETON E ROSSI (1965). Preparou-se uma solução padrão de ácido gálico de concentração rigorosa próxima dos 40 mM, utilizando como solvente o usado nas extrações anteriormente descritas. A partir dessa solução padrão de ácido gálico, prepararam-se os seguintes padrões: 0,01; 0,02; 0,05; 0,1; 0,2 e 0,4 mmol/L. Misturou-se 1 mL de cada uma

dessas soluções (em triplicado) com 1 mL de reagente de Folin e Ciocalteu. Após 3 minutos, adicionaram-se 1 mL da solução de carbonato de sódio (saturada). Em seguida, adicionaram-se 7 mL de água destilada e manteve-se a reação no escuro durante 90 minutos e leu-se a absorvância a 725 nm. Em simultâneo, preparou-se um branco com o solvente usado nas extrações das amostras, seguindo todos os passos anteriores, tendo-se feito o zero de absorvância com esta solução.

Em relação às amostras, prepararam-se diferentes concentrações a partir das soluções de extrato anteriormente indicadas (50 mg/mL), em duplicado. Adicionou-se a 1 mL de cada uma delas, 1 mL de reagente de Folin e Ciocalteu. Após 3 minutos, adicionou-se 1 mL da solução de carbonato de sódio (saturada) e, em seguida, adicionou-se 7 mL de água destilada e manteve-se a reação no escuro durante 90 minutos. Após esse tempo, leu-se a absorvância a 725 nm num espectrofotômetro ultravioleta/visível. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico (GAE)/g amostra.

3.3.3 Efeito bloqueador de radicais livres de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)

Diluiu-se a solução de extrato de cada uma das amostras de forma a obter diferentes concentrações. Misturou-se 0,3 mL de cada uma das soluções anteriores com 2,7 mL de uma solução metanólica contendo radicais DPPH (6×10^{-5} mol/L). Preparou-se, em simultâneo, uma solução idêntica com etanol a 80% (v/v) em vez de amostra. Agitou-se a solução e colocou-se a repousar no escuro durante 1 hora. Mediu-se a absorvância das soluções a 517 nm, tendo sido utilizado etanol a 80% (v/v) para estabelecer o zero de absorvância. Calculou-se o efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH, usando a seguinte equação:

$$\% \text{ Efeito Bloqueador} = \frac{Abs_{DPPH} - Abs_A}{Abs_{DPPH}} \times 100$$

Sendo: Abs_A = Absorvância da solução de extrato da amostra.

Abs_{DPPH} = Absorvância da solução de DPPH.

A concentração do extrato a que correspondeu 50% de inibição e intitulada EC_{50} , foi calculada a partir da representação gráfica da % do efeito bloqueador em função da concentração de extrato.

3.3.4 Poder redutor

Em 1 mL de solução de extrato de amostra a diferentes concentrações, adicionou-se 2,5 mL de solução tampão de fosfato 0,2 mol/L com pH 6,6 e 2,5 mL de ferricianeto de potássio 1% (m/v), tendo a solução sido agitada num Vortex. Deixaram-se as soluções em repouso por 20 minutos a 50 °C. Posteriormente, adicionaram-se 2,5 mL de ácido tricloroacético a 10% e agitou-se vigorosamente. Retiraram-se 2,5 mL do sobrenadante e adicionaram-se 2,5 mL de água e 0,5 mL de cloreto de ferro (III) 0,1%. Leu-se a absorvância a 700 nm e fez-se o branco com o solvente da extração. Prepararam-se várias concentrações de extrato de forma a calcular o EC₅₀, correspondente à concentração que originou uma absorvância de 0,5.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os resultados foram analisados recorrendo ao *software* SPSS (v.20) (SPSS Inc., Chicago, IL). Após confirmação da normalidade dos dados e da homogeneidade das variâncias pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e Levene, respetivamente, realizou-se o teste de análise de variância “*one-way*” (ANOVA). Quando se observaram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias, aplicou-se o teste de Tukey HSD. Posteriormente, com o intuito de associar os diferentes constituintes da abóbora analisados em grupos homogêneos, realizou-se uma análise de componentes principais considerando as seguintes variáveis: Poder Redutor, Efeito Bloqueador dos Radicais Livres de DPPH, Fenóis totais, Carotenóides totais e Vitamina C.

Capítulo 4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 GERMINAÇÃO DAS SEMENTES E CULTIVO DA ABÓBORA

4.1.1 Germinados da abóbora

Na primeira etapa do presente trabalho procedeu-se à germinação das sementes de abóbora. Para isso, as sementes foram depositadas num tabuleiro com areia calcinada e húmida, permanecendo enterradas até a radícula atingir o tamanho necessário para as colocar no frasco para prosseguir com a germinação, como demonstrado na Figura 9. Observou-se que a formação da radícula como observada na Figura 9, demorou cerca de 5 dias, tendo algumas sementes atingido o tamanho referido primeiro que outras.



Figura 9. Surgimento da radícula.

Na fase seguinte, as sementes já germinadas foram transferidas para recipientes de vidro previamente preparados para poder prosseguir com o trabalho. Foram utilizados 10 aparatos, com água e sem adição de mais nenhum produto para auxiliar no desenvolvimento das sementes, utilizando apenas a fonte de energia presente na própria semente para completar o processo de germinação. Em cada frasco foram colocadas 12 sementes. Na Figura 10 é apresentada as fases da evolução dos germinados até o ponto em que foram colhidos. O processo demorou aproximadamente 5 dias, até os germinados

atingirem uma quantidade apreciável de massa (Figura 10). Esse procedimento foi repetido três vezes, totalizando 360 sementes germinadas, gerando cerca de 682 gramas de germinados, os quais posteriormente foram separados entre folhas e raízes para serem analisados.



Figura 10. Etapas do processo de germinação.

4.1.2 Cultivo da abóbora

Tal como indicado no capítulo anterior, no cultivo da abóbora utilizou-se um espaço de cerca de 30 m² numa das estufas do Instituto Politécnico de Bragança. As sementes foram depositadas em sulcos feitos no chão com espaçamento de cerca de 50 cm umas das outras, e receberam água por um sistema de irrigação automático. As sementes foram plantadas na segunda quinzena de maio, e cerca de 60 dias após o plantio surgiram as primeiras flores. Nessa altura realizou-se a colheita de parte das mesmas para a realização das análises. As flores foram colhidas na parte da manhã enquanto estavam abertas e deu-se preferência para a colheita de flores masculinas, devido o intuito das flores femininas se desenvolverem para a formação de frutos. A Figura 11 mostra a evolução do crescimento das plantas de abóbora.

Devido ao facto da abóbora ser uma planta monoica e necessitar de polinização entre as flores para ocorrer o desenvolvimento do fruto, não foi possível obter fruto, pois como o plantio foi realizado dentro de uma estufa, não haviam insetos e nem corrente de ar para realizar esse processo. Portanto, como não foi possível obter frutos para se

poderem realizar as análises posteriores, decidiu-se adquirir o fruto da mesma variedade de abóbora a outro produtor.



Figura 11. Evolução das plantas de abóbora em estufa.

4.2 ANÁLISES QUÍMICAS

Os resultados das análises químicas realizadas com o intuito de caracterizar os diferentes componentes da variedade de abóbora escolhida para realizar o presente trabalho, encontram-se apresentados nas Tabelas 4, 5 e 6.

Como mostra a Tabela 4, os valores de humidade diferiram significativamente entre si, variando de $5,79 \pm 0,01\%$ a $95,64 \pm 0,23\%$, tendo a semente apresentado a menor percentagem de água, ao contrário da raiz do germinado, do fruto e da flor, os quais apresentaram as maiores percentagens de água. SANT'ANNA (2005) ao avaliar sementes de *Cucurbita pepo* L. encontrou um valor para a humidade da semente de abóbora muito superior (29,24%) ao valor médio determinado no presente trabalho, enquanto KIM *et al.* (2012), ao avaliarem sementes desta mesma variedade, encontraram uma humidade de $7,41 \pm 0,09\%$, valor que se aproxima do resultado obtido no presente trabalho. Esta variabilidade nos valores de água detetados nas sementes de abóbora pode ser o resultado de diferentes tempos armazenamento das sementes desde a sua colheita à sua análise, sendo esperado que as sementes que foram colhidas mais recentemente apresentem maiores teores de água face aquelas que foram colhidas há mais tempo. De facto, as sementes utilizadas no presente trabalho foram adquiridas numa loja comercial, não sendo possível saber o seu tempo de armazenamento.

Tabela 4. Valores de Humidade, pH e Acidez titulável para as amostras analisadas.

Amostra	Humidade (%)	pH	Acidez Titulável	Acidez Titulável
			(g de ácido cítrico/100 g matéria fresca)	(g de ácido cítrico/100 g matéria seca)
Semente	5,79± 0,01 ^a	6,93 ± 0,02 ^e	0,36 ±0,01 ^c	0,39±0,01 ^b
Folha germinado	90,33 ± 3,84 ^{b,c}	5,90 ± 0,01 ^c	0,18 ±0,07 ^b	1,83±0,01 ^e
Raiz germinado	95,64 ± 0,23 ^d	5,71 ± 0,02 ^b	0,050 ±0,003 ^a	1,11±0,01 ^c
Flor	93,91 ± 1,31 ^{b,c,d}	6,09 ± 0,01 ^d	0,10 ±0,02 ^{a,b}	1,61±0,02 ^d
Fruto	95,01 ± 0,68 ^{c,d}	5,47 ± 0,09 ^a	0,030 ±0,003 ^a	0,29±0,02 ^a
Folha desenvolvida	89,88 ± 0,68 ^b	7,90 ± 0,02 ^f	0,027 ±0,002 ^a	0,26±0,01 ^a

Diferentes letras em cada coluna indicam diferenças significativas (p<0,05).

Em relação à flor, o valor identificado ($93,91 \pm 1,31\%$) é próximo dos valores descritos por NAVARRO-GONZÁLEZ *et al.* (2015) para outras variedades de flores comestíveis, como por exemplo a capuchinha (*Tropaeolum majus*) com $89,32 \pm 0,16\%$ de humidade e também o Cravo-africano (*Tagetes erecta*) com $83,39 \pm 0,17\%$. Esse elevado teor de humidade é um dos fatores que justificam a alta perecibilidade de flores comestíveis, pois a grande quantidade de água torna as flores um meio muito favorável e susceptível ao desenvolvimento de microrganismos. Ao contrário da flor, o fruto, apesar de também possuir uma alta percentagem de humidade, pode ser conservado até 6 meses após a sua colheita, como citado em MAMAOT (2012). Isso é possível devido à casca que envolve o fruto, a qual também serve de barreira para a ação de possíveis microrganismos e outras reações de degradação.

Ainda observando a Tabela 4, e em relação aos valores de pH, todos os resultados obtidos variaram significativamente entre si, apresentando valores entre $5,47 \pm 0,09$ e $7,90 \pm 0,02$, ou seja, todos os constituintes apresentaram características de pH entre ácido e neutro. O menor valor encontrado correspondeu ao fruto de abóbora, sendo que MARTÍNEZ-VALDIVIESO *et al.* (2015), que também avaliaram frutos de *Cucurbita pepo* L., obtiveram valores ligeiramente superiores ao valor médio encontrado no presente trabalho, indicando que os valores de pH do fruto tinham variado de 6,4 a 6,8. O maior valor de pH obtido foi para a folha desenvolvida de abóbora, que mesmo assim se apresentou inferior ao valor encontrado por PIEKARSKI (2009) que obteve um pH de $8,41 \pm 0,08$. Refira-se que o intervalo de valores de pH obtidos para todos os constituintes da abóbora se refere a uma gama de valores de pH ótimos para o desenvolvimento de vários tipos de microrganismos.

Em relação à acidez titulável determinada nas amostras, expressa em g de ácido cítrico/100 g matéria fresca, o maior valor obtido foi para a semente ($0,36 \pm 0,01$) e o menor para a folha desenvolvida ($0,027 \pm 0,002$), o que expressou uma certa coerência com os valores anteriores de pH, tendo em vista que a folha desenvolvida havia revelado o maior valor de pH de entre os componentes analisados. Já no caso do fruto, seria de esperar um maior valor de acidez titulável, uma vez que foi o componente que apresentou o valor de pH mais baixo. Resultados idênticos foram obtidos ao expressar a acidez titulável em matéria seca, tendo novamente o fruto apresentado um dos menores valores de acidez titulável. Já a folha do germinado e a flor mostraram uma maior acidez titulável ($1,83 \pm 0,01$ e $1,61 \pm 0,02$ g de ácido cítrico/100 g de matéria seca, respetivamente).

Na Tabela 5 encontram-se apresentados os teores de ácido ascórbico e carotenóides totais determinados nas amostras analisadas. Como já é do nosso conhecimento, o ácido ascórbico e os carotenóides possuem atividade biológica no organismo humano, sendo duas das principais fontes de antioxidantes naturais encontradas (DUARTE-ALMEIDA *et al.*, 2006).

O ácido ascórbico, popularmente conhecido como vitamina C, apresentou valores entre $0,94 \pm 0,13$ e $9,02 \pm 2,14$ mg Ác. ascórbico/100 g matéria fresca, sendo o menor valor pertencente ao fruto, e o maior à flor.

O maior valor encontrado ($9,02 \pm 2,14$ mg Ác. ascórbico/100 g matéria fresca) pertenceu à flor de abóbora, e mostra-se condizente com o encontrado por BOLAÑOS *et al.* (2013) também para flores de *Cucurbita pepo* L. que apresentaram valores entre 9,09 e 16,51 mg Ác. ascórbico/100 g matéria fresca. Ao serem expressos em matéria seca, os valores de ácido ascórbico variaram entre $4,12 \pm 0,55$ e $114,55 \pm 1,38$ mg Ác. ascórbico/100 g matéria seca, onde o maior valor continua a pertencer à flor.

Para manter uma reserva de 1500 mg, ou seja, a quantidade essencial para evitar o escorbuto, é necessária a absorção diária de cerca de 45 mg de vitamina C segundo a OMS. Assim, 100 gramas de flor de abóbora desidratada supre aproximadamente o dobro da dose diária necessária de ácido ascórbico.

Em relação aos valores de carotenóides totais, os mesmos variaram entre $0,05 \pm 0,01$ e $44,45 \pm 5,81$ mg de β -caroteno/100g de matéria fresca, sendo o menor valor referente ao fruto, semelhante ao encontrado por SEROCZYŃSKA *et al.* (2006) para a *Cucurbita maxima* Duch. que apresentou um valor de 0,07 mg de β -caroteno/100g de matéria fresca. MURKOVIC *et al.* (2002) ao avaliarem 3 variedades de frutos de abóbora (*Cucurbita pepo*, *Cucurbita maxima* e *Cucurbita moschata*), encontraram valores entre 0,06 e 2,3 mg de β -caroteno/100g de matéria fresca para a *Cucurbita pepo* L., que se assemelha ao obtido no presente trabalho.

O constituinte analisado que apresentou o maior teor de carotenóides foi a folha desenvolvida, que revelou praticamente o dobro de carotenóides que o encontrado por GUPTA *et al.* (2005), que avaliaram a composição química de treze variedades de folhas ($22,37$ mg de β -caroteno/100g de matéria fresca), para a variedade *Cucurbita maxima*, sendo então considerada uma boa fonte desses compostos.

Tabela 5. Concentrações de ácido ascórbico e carotenóides totais para as amostras analisadas.

Amostra	Ácido ascórbico (mg Ac Ascórbico/100 g matéria fresca)	Ácido ascórbico (mg Ac Ascórbico/100 g matéria seca)	Carotenóides totais (mg de β -caroteno/100g matéria fresca)	Carotenoides totais (mg de β -caroteno/100g matéria seca)
Semente	$3,88 \pm 0,52^b$	$4,12 \pm 0,55^a$	$1,28 \pm 0,03^a$	$1,36 \pm 0,04^a$
Folha Germinado	$2,68 \pm 0,15^{a,b}$	$61,53 \pm 0,57^d$	$1,04 \pm 0,30^a$	$11,15 \pm 1,51^a$
Raiz	$2,67 \pm 1,08^{a,b}$	$27,62 \pm 1,09^c$	$0,09 \pm 0,01^a$	$1,99 \pm 0,10^a$
Flor	$9,02 \pm 2,14^c$	$114,55 \pm 1,38^e$	$11,28 \pm 2,57^b$	$143,34 \pm 1,77^b$
Fruto	$0,94 \pm 0,13^a$	$9,73 \pm 1,54^b$	$0,05 \pm 0,01^a$	$0,98 \pm 0,07^a$
Folha Desenvolvida	$2,55 \pm 0,31^{a,b}$	$25,11 \pm 1,93^c$	$44,45 \pm 5,81^c$	$437,84 \pm 27,09^c$

Diferentes letras em cada coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Tendo em conta que o fruto deriva da flor, a diferença entre os valores encontrados entre ambos foi significativa, sendo que a flor apresentou $11,28 \pm 2,57$ mg de β -caroteno/100g de matéria fresca face ao fruto que só apresentou $0,05 \pm 0,01$ mg de β -caroteno/100g de matéria fresca. SEROCZYŃSKA *et al.* (2006) que avaliaram a relação entre o teor de carotenóides totais entre a flor e o fruto de *Cucurbita maxima* Duch. encontraram valores semelhantes ao apresentado nesse trabalho.

Em termos de matéria seca, o fruto e a folha desenvolvida mantiveram-se como sendo os constituintes com o menor e o maior teor em carotenóides totais, respetivamente.

A Tabela 6 apresenta os valores da análise centesimal dos constituintes da abóbora, em termos de cinzas, proteína, gordura e fibras.

O teor de cinzas, como é do conhecimento geral, representa a matéria inorgânica que resta após a calcinação de um material orgânico à temperatura de aproximadamente $550\text{ }^{\circ}\text{C}$, representando a quantidade total de minerais presentes na amostra analisada.

Em relação ao teor de cinzas apresentado, observou-se uma variação de $0,54 \pm 0,31$ a $4,12 \pm 0,02$ g/100g de amostra em matéria fresca, sendo o maior valor pertencente à semente e o menor ao fruto da abóbora. Comparando com o estudo já realizado por KIM *et al.* (2012), que analisou a semente, a polpa e a casca de três variedades diferentes de cucurbitáceas, os valores do presente trabalho mostraram ser semelhantes aos referidos por esses autores para a *Cucurbita pepo* L., designadamente de $5,50 \pm 0,10$ g/100g de amostra em matéria fresca para as sementes, e $0,34 \pm 0,04$ g/100g de amostra em matéria fresca para a polpa do fruto.

Comparando a folha do germinado ($0,61 \pm 0,25$ g/100g de amostra em matéria fresca), com a folha desenvolvida ($1,28 \pm 0,12$ g/100g de amostra em matéria fresca), observou-se um aumento de aproximadamente duas vezes no teor de cinzas, o que pode estar relacionado com os minerais que foram absorvidos do solo durante o desenvolvimento da planta, tendo em vista que a folha do germinado não teve nenhuma fonte de nutrientes para o seu crescimento. Contudo, em termos estatísticos não foram observadas diferenças significativas entre os dois tipos de folha.

Tabela 6. Composição centesimal das amostras analisadas.

Amostra	Cinzas (g/100g de matéria fresca)	Cinzas (g/100g de matéria seca)	Proteína (g/100g de matéria fresca)	Proteína (g/100g de matéria seca)	Gordura (g/100g de matéria fresca)	Gordura (g/100g de matéria seca)	Fibras (g/100g de matéria fresca)	Fibras (g/100g de matéria seca)
Semente	4,12±0,02 ^b	4,38±0,02 ^a	4,13±0,34 ^c	4,39 ± 0,34 ^a	47,35±0,45 ^b	50,26 ± 0,48 ^e	30,78±1,34 ^d	32,67 ± 1,42 ^d
Folha Germinado	0,61±0,25 ^a	6,25±0,07 ^b	0,34±0,14 ^{a,b}	3,48 ± 0,20 ^a	1,02±0,45 ^a	10,39 ± 0,50 ^c	1,47±0,59 ^{b,c}	15,18 ± 0,38 ^b
Flor	1,02±0,27 ^a	12,87±0,66 ^d	0,71±0,31 ^b	8,76 ± 1,70 ^b	0,46±0,10 ^a	5,84 ± 0,08 ^b	0,72±0,16 ^{a,b}	9,12 ± 0,11 ^a
Fruto	0,54±0,31 ^a	7,76±0,06 ^c	0,17±0,03 ^a	3,43 ± 0,56 ^a	0,14±0,02 ^a	2,73 ± 0,31 ^a	0,49±0,07 ^a	9,84 ± 0,02 ^a
Folha Desenvolvida	1,28±0,12 ^a	6,32±0,16 ^b	0,33±0,03 ^{a,b}	3,28 ± 0,21 ^a	0,51±0,02 ^a	4,99 ± 0,27 ^b	2,43±0,16 ^c	24,05 ± 0,23 ^c

Diferentes letras em cada coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Quando expressos em matéria seca, os resultados para o teor de cinzas mostraram-se diferentes. A semente que antes apresentava o maior valor, passou a ser agora o menor, com $4,38 \pm 0,02$ g/100g de matéria seca, revelando a flor a maior quantidade, com $12,87 \pm 0,66$ g/100g de matéria seca. Estes resultados devem-se ao elevado teor de água que todos os componentes da abóbora apresentaram ($>90\%$), com exceção da semente que apresentou um baixo teor de humidade (aproximadamente de 6%). O valor encontrado para a flor no presente trabalho é próximo aos valores encontrados por PEREIRA *et al.* (2011) para outras variedades de flores comestíveis, como a *Rumex acetosella* (conhecida em Portugal como Azeda-dos-noivos) com $10,93 \pm 1,06$ g/100g de matéria seca, e a *Rumex induratus* (conhecida em Portugal por Azeda-romana) com $11,07 \pm 0,30$ g/100g de matéria seca.

Ainda analisando a Tabela 6, quanto ao teor de proteínas, observou-se uma variação significativa entre as amostras, tendo sido o menor valor encontrado para o fruto ($0,17 \pm 0,03$ g/100g de matéria fresca) e o maior para a semente ($4,13 \pm 0,34$ g/100g de matéria fresca). KIM *et al.* (2012) ao analisar o conteúdo proteico do fruto da *Cucurbita pepo* L. encontrou um valor muito próximo ($0,21 \pm 0,01$ g/100g de matéria fresca) ao obtido neste trabalho. Em contrapartida, quando comparando os teores de proteína na semente, o obtido por KIM *et al.* (2012) ($30,88 \pm 1,21$ g/100g de matéria fresca) foi muito maior que o identificado neste trabalho. Contudo, esta diferença de resultados pode dever-se a alguma variabilidade que é observada no teor de humidade das sementes. Em relação ao conteúdo de proteína na flor da abóbora ($0,71 \pm 0,31$ g/100g de matéria fresca), este foi um pouco inferior aos valores reportados por NAVARRO-GONZÁLEZ *et al.* (2015) para outras flores comestíveis, como por exemplo a Capuchinha (*Tropaeolum majus*) ($1,99 \pm 0,06$ g/100g de matéria fresca), o Cravo-africano (*Tagetes erecta*) ($1,32 \pm 0,01$ g/100g de matéria fresca) e o Jambu (*Spilanthus oleracea*) ($2,84 \pm 0,11$ g/100g de matéria fresca).

Quando expressos em termos de matéria seca, o constituinte com o maior conteúdo proteico foi a flor, com $8,76 \pm 1,70$ g/100 g de matéria seca, praticamente igual ao encontrado por PEREIRA *et al.* (2012) para flores de *Borago* ($8,93 \pm 1,58$ g/100g de matéria seca).

Considerando o teor de gordura total das amostras representado em matéria fresca, a semente diferiu significativamente de todas as outras amostras, possuindo $47,35 \pm 0,45$ g/100g de matéria fresca, enquanto o fruto apresentou o menor valor, $0,14 \pm 0,02$ g/100g de matéria fresca.

A semente de abóbora é conhecida pelo seu alto teor de gordura. KIM *et al.* (2012) obtiveram valores, em massa fresca, de $43,99 \pm 0,29\%$, $45,68 \pm 1,17\%$ e $52,43 \pm 0,13\%$ para as variedades *Cucurbita pepo*, *Cucurbita moschata* e *Cucurbita maxima*, respectivamente, semelhantes aos do presente trabalho. ARDABILI *et al.* (2011) avaliaram a variedade *Cucurbita pepo* cultivada no Irão, e encontraram uma percentagem de gordura de $41,59 \pm 2,71\%$, valor da mesma ordem de grandeza do obtido no presente trabalho.

Pelo contrário, o fruto de abóbora foi o constituinte que apresentou o menor valor de gordura, sendo coerente com o resultado obtido por KIM *et al.* (2012), que encontraram $0,05 \pm 0,01\%$ de gordura em matéria fresca para a *Cucurbita pepo*. Os valores expressos em matéria seca demonstraram existir uma diferença significativa entre todos os constituintes analisados. Contudo, a semente e o fruto continuaram a ser aqueles constituintes com a maior e menor percentagens, respectivamente.

Em suma, a semente de abóbora se apresenta como uma ótima fonte de óleo (gordura) que já é alvo de estudos por investigadores devido às propriedades bioativas presentes nesse óleo.

Em relação ao percentual de fibras, detetaram-se diferenças significativas nas amostras, tanto para os resultados expressos em matéria seca como em matéria fresca, apresentando uma variação de $32,67 \pm 1,42$ a $9,12 \pm 0,11$ g/100g de matéria seca, sendo a semente o constituinte que apresentou o maior valor e a flor o menor, e entre $30,78 \pm 1,34$ e $0,49 \pm 0,07$ g/100g de matéria fresca, onde a semente se manteve com a maior percentagem, enquanto o menor valor pertenceu ao fruto da abóbora.

Estudos realizados envolvendo semente de abóbora, já a apontavam como sendo uma boa fonte de fibras. KIM *et al.* (2012) ao analisar três variedades diferentes de abóbora (*Cucurbita pepo*, *Cucurbita moschata* e *Cucurbita maxima*) provenientes da Coreia, encontraram teores de fibra entre $10,85 \pm 0,84$ e $16,15 \pm 0,68$ g/100g de matéria fresca. SANT'ANNA (2005) obteve um valor de $15,33$ g/100g de matéria fresca para a *Cucurbita pepo*, sendo todos os valores apresentados inferiores ao encontrados neste trabalho. Contudo, volta-se a referir que as sementes podem apresentar diferentes teores de humidade, os quais afetaram os resultados obtidos.

O fruto e a flor de abóbora apresentaram as menores percentagens em fibra face aos restantes constituintes. O fruto de *Cucurbita pepo*, quando analisado por KIM *et al.* (2012), apresentou um teor em fibras de $0,37 \pm 0,02$ g/100g de matéria fresca, similar ao determinado neste trabalho. Em relação ao teor de fibras em flores de abóbora, do nosso conhecimento ainda não foram realizados quaisquer estudos. No entanto, NAVARRO-

GONZÁLEZ *et al.* (2015), ao avaliar outras variedades de flores comestíveis, obtiveram valores de fibras de $9,20 \pm 0,04$ e $10,11 \pm 0,41$ g/100g de matéria fresca para as variedades Cravo-africano (*Tagetes erecta*) e Jambu (*Spilanthes oleracea*), respectivamente, sendo ambos semelhantes ao determinado no presente trabalho para a flor de abóbora.

Na Figura 12 estão representados os valores de açúcar totais identificados para os vários constituintes da abóbora, encontrando-se expressos em valores de matéria fresca e matéria seca.

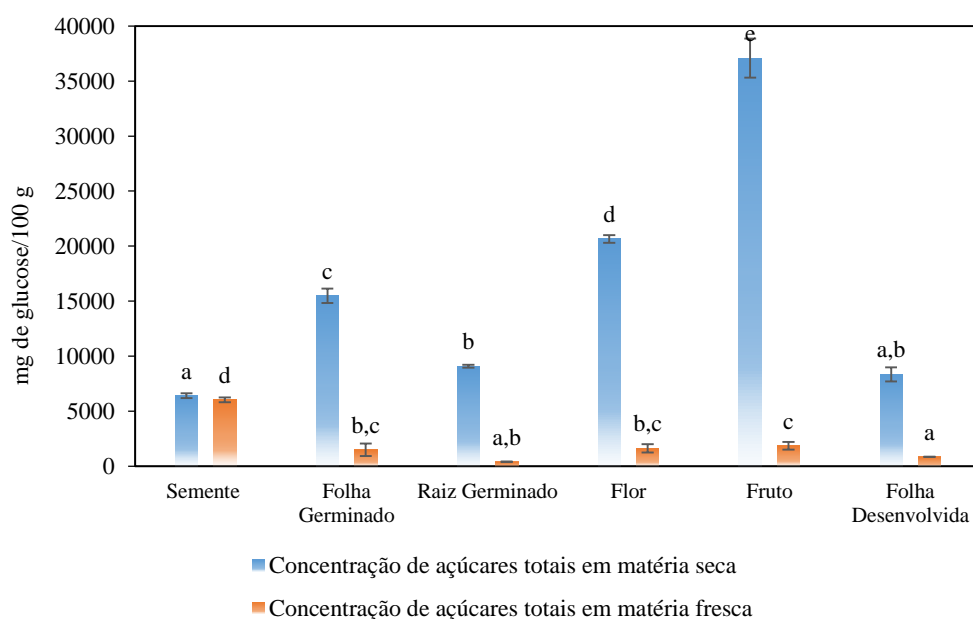


Figura 12. Concentração de açúcares totais por constituinte da abóbora (*Cucurbita pepo* L.). Diferentes letras em cada coluna da mesma cor indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

A concentração de açúcares totais representada em matéria seca teve uma variação significativa de entre todas as amostras. Os valores observados variaram de 6403 ± 227 a 37086 ± 1785 mg de glucose/100g de matéria seca, tendo a semente revelado a menor concentração, e o fruto a maior.

Nota-se a grande diferença de valores quando a representação dos resultados é feita em matéria fresca, observando-se um intervalo de 396 ± 15 a 6032 ± 213 mg de glucose/100g de matéria fresca, com a maior concentração pertencente à semente, contrariando os resultados em matéria seca, nos quais a semente foi a menor. O menor valor apresentado por matéria fresca pertence à raiz do germinado. Novamente essa grande variação é explicada pela diferença de humidade existente de entre as amostras analisadas.

4.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

4.3.1 Teor em compostos fenólicos totais (TFT) ou capacidade redutora total

Os resultados obtidos para a capacidade redutora total determinados nos diversos constituintes da abóbora encontram-se apresentados na Figura 13, os quais estão expressos em equivalentes de ácido gálico (mg GAE/g amostra), tanto em termos de matéria fresca como de matéria seca.

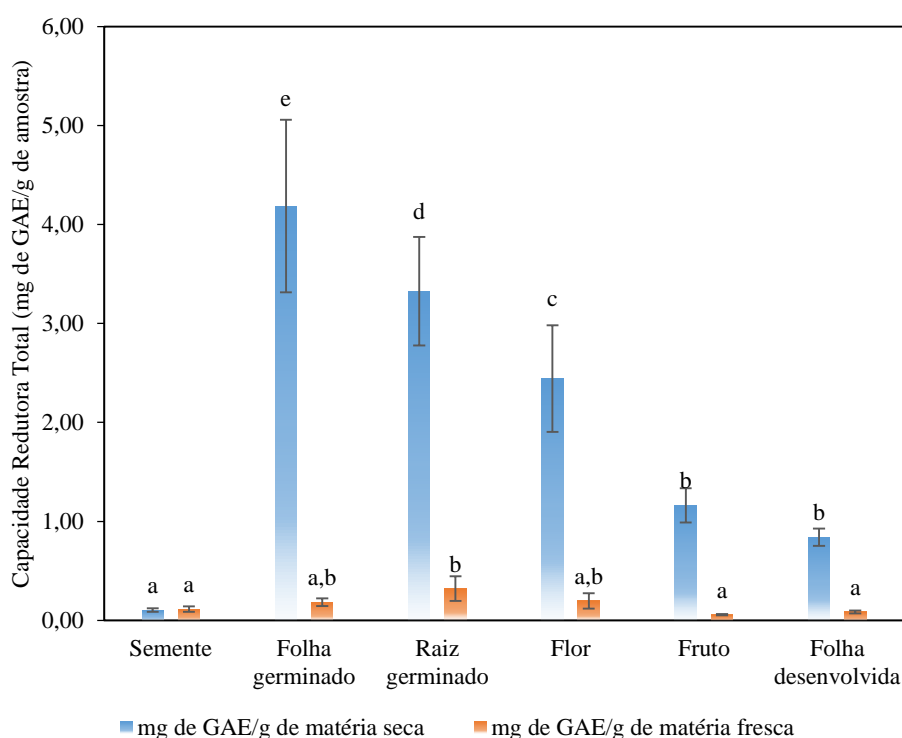


Figura 13. Capacidade redutora total dos diversos constituintes da abóbora. Diferentes letras em cada coluna da mesma cor indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Em relação à matéria seca, verificou-se que todas as amostras analisadas diferiram significativamente entre si. A maior Capacidade Redutora Total, em termos de matéria seca, foi encontrada na folha do germinado ($4,19 \pm 0,87$ mg GAE /g amostra seca) e a menor foi determinada na semente ($0,10 \pm 0,02$ mg GAE /g amostra seca).

Não foram encontrados na literatura dados de quantificação da Capacidade Redutora Total em germinados de abóbora para comparação com os resultados obtidos no presente estudo. Porém, quando comparados os germinados de abóbora com outros

germinados comestíveis, VALE *et al.* (2014) ao determinarem valores de Capacidade Redutora Total em germinados de repolho vermelho e brócolo, obtiveram valores iguais a $59,02 \pm 0,88$ e $61,57 \pm 0,69$ mg GAE/g de amostra em matéria seca, respectivamente, ou seja, valores bastante superiores aos encontrados na folha do germinado de abóbora investigada no presente estudo. Pelo contrário, PAJAK *et al.* (2014) obtiveram valores para sementes e germinados de feijão Mungo próximos aos encontrados neste trabalho.

Quando analisados os dados expressos em matéria fresca, a raiz do germinado apresentou-se como o constituinte com a maior Capacidade Redutora Total ($0,32 \pm 0,12$ mg GAE /g amostra), enquanto o fruto se apresentou como o componente com a menor concentração ($0,06 \pm 0,01$ mg GAE /g amostra). A flor de abóbora apresentou a segunda maior Capacidade Redutora Total, com $0,20 \pm 0,08$ mg GAE/g de amostra. ROP *et al.* (2012) avaliaram 12 espécies diferentes de flores comestíveis, e encontraram valores de Capacidade Redutora Total entre $0,20 \pm 0,03$ e $0,528 \pm 0,04$ mg GAE/g de amostra em matéria fresca, gama de valores da mesma ordem de grandeza à encontrada no presente trabalho. Também BOLAÑOS *et al.* (2013), ao avaliarem a flor da abóbora (*Cucurbita pepo* L.), determinaram uma Capacidade Redutora Total de $0,24 \pm 0,02$ mg GAE/g de amostra em matéria fresca, valor muito próximo ao encontrado neste trabalho ($0,20 \pm 0,08$ mg GAE/g de amostra).

Comparando a Capacidade Redutora Total encontrada para a semente com a dos germinados, em matéria fresca, observou-se um aumento de 62% para a folha do germinado, e de 183% para a raiz, em relação à semente. Essas mudanças na composição fenólica se devem principalmente à ativação de enzimas endógenas e ao complexo metabolismo bioquímico das sementes durante o processo de germinação (DUEÑAS *et al.*, 2009).

4.3.2 Efeito bloqueador de radicais livres de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)

O método do efeito bloqueador de radicais livres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) é uma das ferramentas essenciais para perceber o potencial antioxidante, mais especificamente, da atividade antiradicalar das amostras analisadas. O efeito bloqueador de radicais livres de DPPH foi expresso em percentagem de inibição *versus* concentração de extrato, bem como em termos de valores de EC_{50} , estando os valores representados na Figura 14 e na Tabela 7, respetivamente.

Observando a Figura 14 foi possível constatar que para todos os constituintes de abóbora analisados existiu um aumento do efeito bloqueador de radicais livres de DPPH com o acréscimo de concentração de extrato, sendo que para algumas amostras foi necessária uma maior concentração de extrato para se obter maiores percentagens de inibição, tornando-se visível a diferença do poder antioxidante dos constituintes analisados.

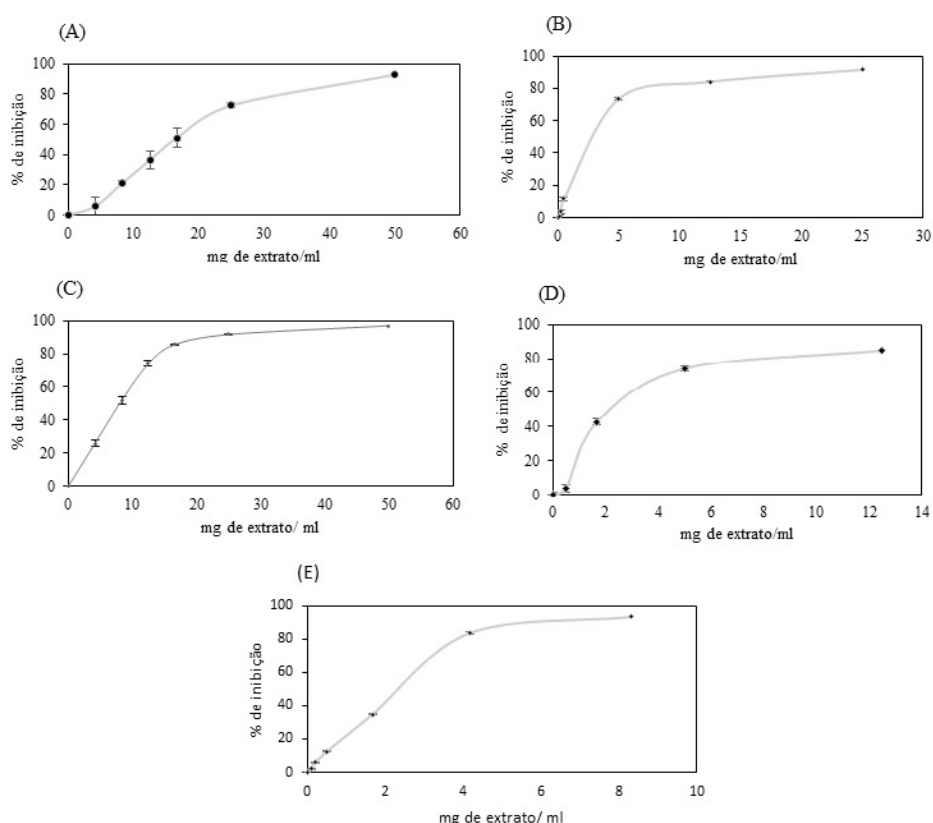


Figura 14. Efeito Bloqueador dos Radicais livres DPPH (%) em relação à concentração de extrato para diferentes constituintes da abóbora: A) Semente, B) Folha Germinado, C) Raiz Germinado, D) Folha Desenvolvida, E) Flor.

Os valores de EC_{50} apresentados na Tabela 7 revelaram diferenças significativas entre os constituintes analisados. Os maiores valores de EC_{50} foram encontrados no fruto (>50 mg de extrato/mL) e na semente ($16,65 \pm 1,14$ mg de extrato/mL), enquanto o menor foi encontrado na folha desenvolvida ($2,43 \pm 0,18$ mg de extrato/mL), tendo a flor apresentado um valor de EC_{50} ($2,45 \pm 0,021$ mg de extrato/mL) muito próximo ao da folha desenvolvida.

Os valores de EC_{50} representam a concentração de extrato necessária para inibir 50% dos radicais livres DPPH, o que significa que, quanto menor for o valor de EC_{50} ,

maior será a capacidade antioxidante da amostra analisada. Sendo assim, a folha desenvolvida e a flor da abóbora apresentaram o maior potencial de inibição dos radicais livres de DPPH e, portanto, a maior atividade antioxidante.

Tabela 7. Valores de EC₅₀ encontrados para a análise de DPPH

Amostra	EC₅₀ DPPH (mg de extrato/mL)
Semente	16,65±1,14 ^d
Folha Germinado	3,29±0,06 ^b
Raiz Germinado	8,03±0,25 ^c
Flor	2,45±,021 ^{a,b}
Fruto	>50 ^e
Folha desenvolvida	2,43±0,18 ^a

Diferentes letras minúsculas na coluna indicam diferenças significativas (p <0,05).

4.3.3 Poder redutor

Os resultados obtidos para o poder redutor foram expressos em absorbância a 700 nm *versus* a concentração de extrato, bem como em termos de valores de EC₅₀ e estão apresentados na Figura 15 e na Tabela 8, respetivamente.

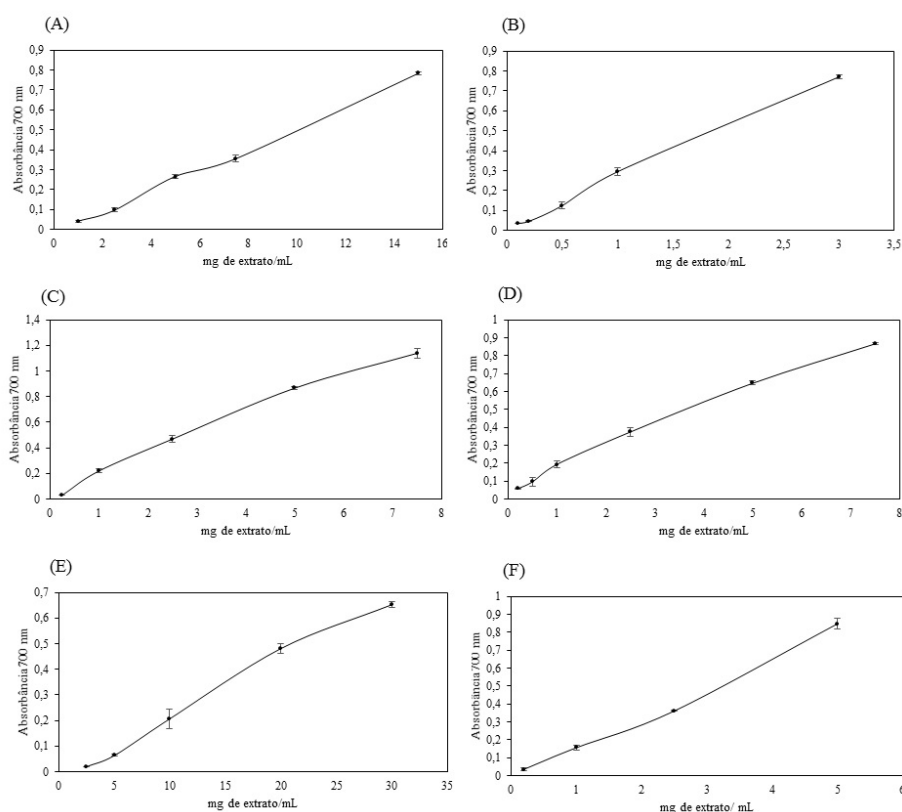


Figura 15. Valores de absorvância a 700 nm versus concentração de extrato para vários constituintes da abóbora: A) Semente, B) Folha Germinado, C) Raiz Germinado, D) Flor, E) Fruto, F) Folha Desenvolvida.

Ao observar a Figura 15 constatou-se que para todos os constituintes analisados houve um aumento do poder redutor com o acréscimo de concentração de extrato, sendo que para algumas amostras foi necessária uma concentração muito maior de extrato para se obter maiores valores de absorvância, revelando a diferença entre o potencial antioxidante entre os constituintes analisados.

Os valores de EC_{50} que se encontram apresentados na Tabela 8 revelaram diferenças significativas entre os constituintes analisados. O maior valor de EC_{50} foi encontrado no fruto de abóbora ($21,27 \pm 0,78$ mg de extrato/mL) e o menor foi encontrado na folha do germinado ($1,86 \pm 0,10$ mg de extrato/mL), tendo a raiz do germinado também apresentado um valor de EC_{50} ($2,69 \pm 0,16$ mg de extrato/mL) bastante interessante.

Sabendo que quanto menor for o valor do EC_{50} , maior será a atividade antioxidante da amostra analisada, a folha e a raiz do germinado foram os componentes que apresentaram a maior atividade antioxidante no que se refere ao poder redutor.

Tabela 8. Valores de EC₅₀ encontrados para a análise de Poder Redutor

Amostra	EC₅₀ Poder Redutor (mg de extrato/mL)
Semente	10,02±0,31 ^d
Folha Germinado	1,86±0,10 ^a
Raiz Germinado	2,69±0,16 ^b
Flor	3,65±0,20 ^c
Fruto	21,27±0,78 ^e
Folha desenvolvida	3,25±0,11 ^{b,c}

Diferentes letras na coluna indicam diferenças significativas (p <0,05).

4.4 COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO

De seguida determinaram-se os coeficientes de correlação entre os valores obtidos nos ensaios do Poder Redutor, efeito bloqueador dos radicais livres DPPH, Capacidade Redutora Total, Carotenóides totais e Vitamina C, cujos resultados estão expressos na Tabela 9.

Foram encontrados coeficientes de correlação muito significativos (nível 0,01) entre os valores de EC₅₀ do Poder Redutor e do Efeito Bloqueador dos Radicais livres DPPH (0,980), e significativos (nível 0,05) entre a Capacidade Redutora Total (fenóis totais) e a vitamina C (0,510), e um coeficiente de correlação negativo entre a Capacidade Redutora Total e os valores de EC₅₀ do Poder redutor (-0,522).

A correlação positiva significativa encontrada entre os valores de EC₅₀ do Poder Redutor e do efeito bloqueador do radical livre DPPH, sugere que os compostos extraídos apresentam propriedades redutoras e atividade antiradicalar, sendo capazes de inibir os radicais livres de DPPH.

A correlação negativa encontrada entre a Capacidade Redutora Total (usada como sendo uma boa aproximação do teor em fenóis totais) e os valores de EC₅₀ do Poder redutor já era esperada. Essa correlação indica que, quanto maior for o teor em fenóis totais, menor será o valor de EC₅₀, pois quanto maior for o teor em fenóis, maior será o potencial antioxidante, e consequentemente maior será o seu poder redutor.

Tabela 9. Coeficientes de correlação encontrados entre os diferentes parâmetros analisados nos diversos constituintes da abóbora

	EC₅₀ Poder Redutor	EC₅₀ DPPH	Capacidade Redutora Total	Carotenóides totais	Vitamina C
Vitamina C	-0,437	-0,455	0,510*	0,090	1
Carotenoides totais	-0,340	-0,412	-0,302	1	
Capacidade Redutora Total	-0,522*	-0,389	1		
EC₅₀ DPPH	0,980**	1			

** . A correlação é muito significativa (nível 0,01)

*. A correlação é significativa (nível 0,05)

4.5 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)

A técnica de Análise de Componentes Principais (PCA) foi utilizada com a intenção de reduzir a dimensão original do espaço de variáveis dos constituintes da abóbora para obter outras variáveis que mantivessem a maior parte da informação das variáveis originais.

Para a Análise de Componentes Principais, as variáveis utilizadas corresponderam aos resultados das análises de Poder Redutor, Efeito Bloqueador dos Radicais Livres de DPPH, Fenóis totais, Carotenóides totais e Vitamina C.

O objetivo desta análise foi definir inter-relações entre variáveis para fornecer uma efetiva representação da variação dos dados. Pela Análise de Componentes Principais extraíram-se duas componentes principais que explicaram 93,67% da variância total das variáveis originais. A Tabela 10 apresenta os coeficientes das componentes principais para cada variável.

Como é mostrado na Tabela 10, a primeira componente principal (Dimensão 1), foi composta pelas seguintes variáveis: valores de EC₅₀ do Poder Redutor e Efeito Bloqueador dos Radicais Livres DPPH, bem como pelos valores de Capacidade Redutora Total e Vitamina C, explicando 67,89% da variação total. A segunda componente (Dimensão 2) foi composta pela variável Carotenóides totais, explicando 25,78% da variação total.

Tabela 10. Coeficientes das componentes principais

	Total (coordenadas de vetor)		
	Dimensão		Total
	1	2	
Poder Redutor	0,915	0,055	0,970
DPPH	0,915	0,055	0,970
Fenóis totais	0,806	0,162	0,968
Carotenóides totais	0,017	0,954	0,971
Vitamina C	0,741	0,063	0,803
Total ativo	3,394	1,289	4,684
% de variância	67,888	25,784	93,672

A Figura 16 apresenta o gráfico de dispersão da primeira componente principal versus a segunda componente, estando também apresentadas as seis amostras analisadas (Semente, Folha do germinado, Raiz do germinado, Flor, Fruto e Folha desenvolvida). Este gráfico mostra claramente como os diferentes constituintes da abóbora se distinguiram entre si. Três grupos distintos foram detetados: o primeiro grupo foi formado pela semente e fruto com os maiores valores de EC_{50} do poder redutor e efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH, indicativo de uma menor atividade antioxidante; um segundo grupo formado pelas folhas desenvolvidas, as quais apresentaram os maiores teores de carotenóides; e um terceiro grupo formado pelos restantes constituintes (raiz e folha do germinado, e flor) com os maiores valores de capacidade redutora total (fenóis totais) e vitamina C.

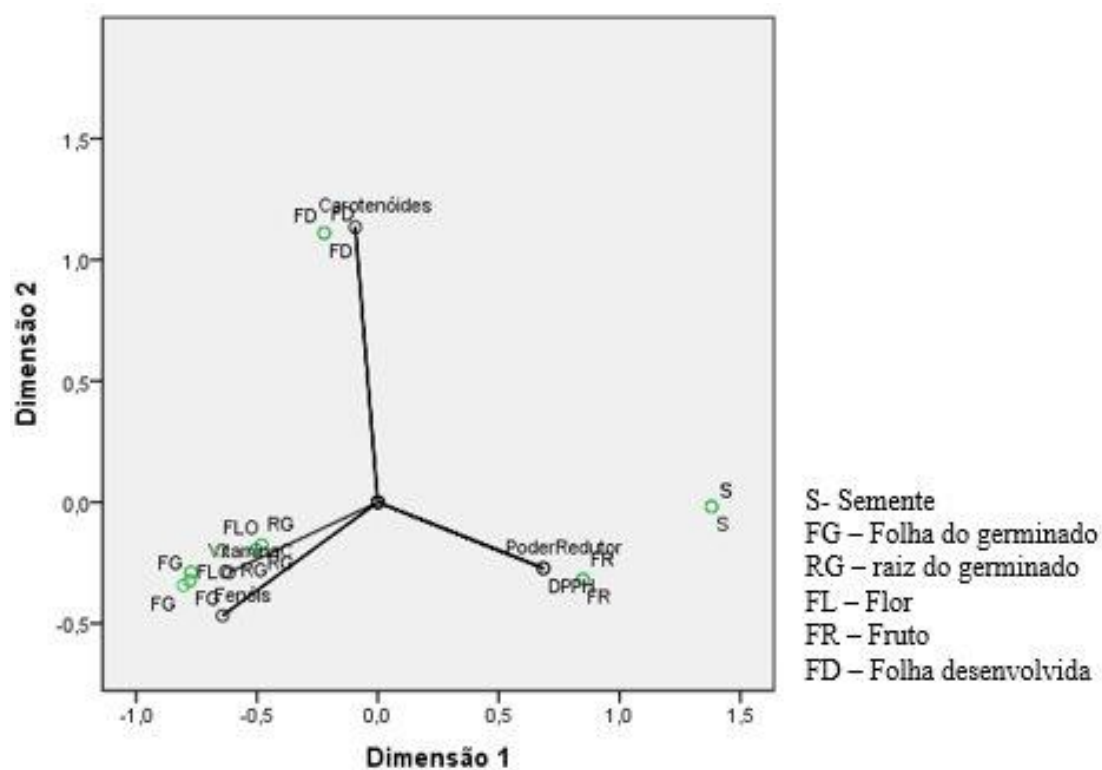


Figura 16. Análise de componentes principais efetuada aos diferentes componentes de abóbora.

Em termos gerais, mesmo que os diferentes constituintes da abóbora analisados apresentaram propriedades diferentes, estes puderam ser agrupados em grupos com características químicas e atividade antioxidante semelhantes, podendo, no futuro, a vir a ser utilizados pelas indústrias alimentar, farmacêutica e cosmética para diferentes fins.

Capítulo 5

CONCLUSÃO

5. CONCLUSÃO

O método utilizado para a germinação das sementes em laboratório apresentou um bom resultado, uma vez que as sementes germinaram aproximadamente 5 dias após o início do trabalho, estando dentro do prazo previsto (4 a 8 dias) para sementes de abóbora, e apresentando uma boa quantia de massa após o processo.

O cultivo da abóbora em estufa foi também realizado com sucesso, tendo o crescimento das plantas ocorrido durante o tempo de vegetação já previsto para as plantas de abóbora (100 dias). Contudo, devido à necessidade de polinização, não foi possível obter o fruto, tendo este sido adquirido a outro produtor.

Em relação às análises químicas realizadas, os constituintes analisados diferiram entre si quanto aos parâmetros determinados, tendo a semente apresentado os maiores resultados em fibras, proteína e gordura.

Em relação às análises de Vitamina C e carotenóides totais, a flor e a folha desenvolvida da abóbora mostraram os melhores resultados, onde 100 g de flor de abóbora liofilizada pode aproximadamente fornecer o dobro da quantidade necessária diária de ingestão de Vitamina C (45 mg/dia). Assim, esses dois constituintes (flor e folha desenvolvida) são considerados boas fontes desses compostos.

Quanto à atividade antioxidante, os germinados (folha e raiz), apresentaram os melhores resultados nas análises realizadas, sugerindo e deixando uma porta aberta para estudos posteriores, não somente de germinados de abóbora, mas também de outras variedades vegetais.

Em suma, os constituintes da abóbora *Cucurbita pepo* L. demonstraram possuir uma composição tanto química, quanto antioxidante, capaz de conferir características benéficas para a saúde humana.

Capítulo 6

REFERÊNCIAS

6. REFERÊNCIAS

- ALBALASMEH A. A., BERHE A. A., GHEZZEHEI T. A., A. (2013). New method for rapid determination of carbohydrate and total carbon concentrations using UV spectrophotometry, *Carbohydrate Polymers*, **97**, 253-261.
- ALIAKBARLU, J.; TAJIK, H. (2012). Antioxidant and antibacterial activities of various extracts of *Borago officinalis* flowers. *Journal of Food Processing and Preservation*, **36**, 539-544.
- AHAMED, K.; AKHTER, B.; ISLAM, M.; ARA, N.; HUMAUAN, M. (2011). An assessment of morphology and yield characteristics of pumpkin (*Cucurbita moschata*) genotypes in northern Bangladesh. *Tropical Agricultural Research & Extension*, **14**, 8-11.
- ARDABILI, A.G., FARHOOSH, R., KHODAPARAST, M.H.H. (2011). Chemical Composition and Physicochemical Properties of Pumpkin Seeds (*Cucurbita pepo* Subsp. *pepo* Var. *Styriaca*) Grown in Iran. *Journal of Agriculture Science and Technology*, **13**, 1053-1063.
- BARMINAS, J.T.; CHARLES, M.; EMMANUEL, D. (1998). Mineral composition of nonconventional leafy Vegetables. *Plant Foods for Human Nutrition*, **53**, 29-36.
- BARREIRA, J.C.M., PEREIRA, J.A., OLIVEIRA, M.B.P.P., FERREIRA, I.C.F.R. (2010). Sugars Profiles of Different Chestnut (*Castanea sativa* Mill.) and Almond (*Prunus dulcis*) Cultivars by HPLC-RI. *Plant Foods for Human Nutrition*, **65**, 48-93.
- BOLAÑOS E.N.A., HERNÁNDEZ T.A.U., LOZANO M.L.D.C., SERVIA J.L.C., GUZMÁN I.V. (2013). Physicochemical parameters and antioxidant compounds in edible squash (*Cucurbita pepo*) flower stored under controlled atmospheres. *Journal of Food Quality*, **36**, 302-308.

CARMO, G.A. (2009). Crescimento, nutrição e produção de cucurbitáceas cultivadas sob diferentes níveis de salinidade da água de irrigação e doses de adubação nitrogenada. Tese de Doutorado em Fitotecnia: Área de concentração em Produção Vegetal – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Pós-Graduação,.

CHARLES, D.J. (2013). Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources. Springer Science e Business Media New York.

CPRA - Centro Paranaense de Referência em Agroecologia, “Abóbora”. Disponível em: <http://www.cpra.pr.gov.br/arquivos/File/Abobora.pdf>. Acesso em: 03/12/2014.

DINIS, Lia-T., PEIXOTO, F., FERREIRA-CARDOSO J. V., MORAIS J. J.L., BORGES A. D.S., NUNES F. M., COUTINHO J. F., COSTA R., GOMES-LARANJO J.(2012). Influence of the growing degree-days on chemical and technological properties of chestnut fruits (var. “Judia”), *CyTA - Journal of Food*, **10**, 216-224,.

DU, J., CULLEN, J.J., BUETTNER, J.R. (2012). Ascorbic acid: Chemistry, biology and the treatment of cancer. *Biochimica et Biophysica*, **1826**, 443-457.

DUARTE-ALMEIDA, J.M.; SANTOS, R.J.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. (2006). Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoleico e método de sequestro de radicais DPPH. *Ciência e Tecnologia Alimentos-Campinas*, **26**, 446-452.

DUEÑAS, M., HERNANDEZ, T., ESTRELLA, I., FERNANDEZ, D. (2009). Germination as a process to increase the polyphenol content and antioxidant activity of lupin seeds (*Lupinus angustifolius* L.). *Food Chemistry*, **117**, 599-607.

EL-ADAWY, T. A.; TAHA, K. M. (2001). Characteristics and composition of watermelon, pumpkin and paprika seed oils and flours. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. **49**, 1253-1259.

EL-SOUKKARY, F.A.H. (2001). Evaluation of pumpkin seed products for bread Fortification. *Plant Foods for Human Nutrition*, **56**, 365-384.

EJOH, R. A. (2007). Nutritional components of some non-conventional leafy vegetables consumed in Cameroon. *Pakistan Journal of Nutrition*, **6**, 712-717.

ESTEBAN, R., MORAN, J.F., BECERRIL, J.M., GARCÍA-PLAZAOLA, J.A. (2015). Versatility of carotenoids: An integrated view on diversity, evolution, functional roles and environmental interactions. *Environmental and Experimental Botany*, **119**, 63–75.

GUPTA, S., LAKSHMI, A. J., MANJUNATH, M.N., PRAKASH J. (2005). Analysis of nutrient and antinutrient content of underutilized green leafy vegetables. *Swiss Society of Food Science and Technology*, **38**, 339-345.

ITOKAWA H., OSHIDA Y., IKUTA A., INATOMIA H., IKEGAMIB S. (1981). Flavonol glycosides from the flowers of *Cucurbita pepo*. *Phytochemistry*, **20**, 2421-2422.

JANG, H. W., MOON, J. K., SHIBAMOTO, T. (2015). Analysis and Antioxidant Activity of Extracts from Broccoli (*Brassica oleracea* L.) Sprouts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **63**, 1169-1174.

KAISOON, O.; KONCZAK, I.; SIRIAMORNpun, S. (2012). Potential health enhancing properties of edible flowers from Thailand. *Food Research International*, **46**, 563-571.

KAUR, G.; ALAM, M.S.; JABBAR, Z.; JAVED K.; ATHAR, M. (2006). Evaluation of antioxidant activity of *Cassia siamea* flowers. *Journal of Ethnopharmacology*, **108**, 340-348,

KELLEY, K.M.; BEHE, B.K.; BIERNBAUM J.A.; POFF K.L. (2001). Consumer Preference for Edible flower Color, Container Size, and Price. *HORTSCIENCE*, **36**, 801-804.

KELLEY, K.M.; BEHE, B.K.; BIERNBAUM J.A.; POFF K.L. (2003). Effect of storage temperature on the quality of edible flowers. *Postharvest Biology and Technology*, **27**, 341-344.

KIM, M.Y.; KIM, E.J.; KIM, Y.N.; CHOI, C.; LEE, B.H. (2012). Comparison of the chemical compositions and nutritive values of various pumpkin (*Cucurbitaceae*) species and parts. *Nutrition Research and Practice*, **6**, 21-27.

KOU, L.; TURNER E.R.; LUO, Y. (2012). Extending the Shelf Life of Edible Flowers with Controlled Release of 1-Methylcyclopropene and Modified Atmosphere Packaging. *Journal of Food Science*, **77**, 188-193.

LAZOS E.S. (1986). Nutritional, Fatty Acid, and Oil Characteristics of Pumpkin and Melon Seeds. *Journal of Food Science*, **51**, 1382-1383.

LAUDERDALE, C.; BRADLEY, L. Edible Flowers. *College of Agriculture & Life Sciences Department of Horticultural Science*. NC State University, s/d. Disponível em: <http://content.ces.ncsu.edu/choosing-and-using-edible-flowers-ag-790.pdf> Acesso em: 22/06/2015.

LI. A.; LI S.; LI H.; XU D.; XU X.; CHEN F. (2014). Total phenolic contents and antioxidant capacities of 51 edible and wild flowers. *Journal of Functional Foods*, **6**, 319-330.

MLCEK, J.; ROP, O. (2011). Fresh edible flowers of ornamental plants - A new source of nutraceutical foods. *Trends in Food Science & Technology*, **22**, 561-569.

MAMAOT - Ministério da Agricultura, do Mar, do Ambiente e do Ordenamento do Território (2012). Catálogo Nacional de Variedades. Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Lisboa.

MANELA-AZULAY, M., MANDARIM-DE-LACERDA, C.A., PEREZ, M.A., FILGUEIRA, A.L., CUZZI, L., (2003). Vitamina C. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, **78**, 265-274.

MARREIROS A., ROSA A. (2011). ABÓBORA MENINA (*Curcubita maxima* Duchesne). *Direcção Regional de Agricultura e Pescas do Algarve Patacão*.

- MARTÍNEZ-VALDIVIESO D., GOMEZ, P., FONT, R., ALONSO-MORAGA, A., RÍO-CELESTINO, M.D. (2015). Physical and chemical characterization in fruit from 22 summer squash (*Cucurbita pepo* L.) cultivars. *Food Science and Technology*, **64**, 1225-1233.
- MATERA R., GABBANINI S., BERRETTI S., AMORATI R., Nicola G.R., IORI R., VALGIMIGLI L. (2015). Acylated anthocyanins from sprouts of *Raphanus sativus* cv. Sango: Isolation, structure elucidation and antioxidant activity. *Food Chemistry*, **166**, 397-406.
- MOO-HUCHIN, V.M., MOO-HUCHIN, M.I., ESTRADA-LEÓN, R.J., CUEVAS-GLORY, L., ESTRADA-MOTA, I.A., ORTIZ-VÁSQUEZ, E., BETANCUR-ANCONA, D., SAURI-DUCH, E. (2015). Antioxidant compounds, antioxidant activity and phenolic content in peel from three tropical fruits from Yucatan, Mexico. *Food Chemistry*, **106**, 17-22.
- MUNTEAN, E., ROSCA, E.G. (2002). Analysis of carotenoids from flowers of *Cucurbita maxima* Duch. by High Performance Liquid Chromatography. *Horticulture*, **57**, 88-91.
- MURKOVIC M., MÜLLEDER U., NEUNTEUF, H. (2002). Carotenoid Content in Different Varieties of Pumpkins. *Journal of Food Composition and Analysis*, **15**, 633-638.
- NAMITHA, K.K., NEG,I P.S. (2010). Chemistry and biotechnology of carotenoids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **50**, 728-60.
- NAVARRO I.G., GONZÁLEZ R.B., VALVERDE V.G., ORTÍN A. B.B., PERIAGO M.J. (2015). Nutritional Composition and Antioxidant Capacity in Edible Flowers: Characterization of Phenolic Compounds by HPLC-DAD-ESI/MSn. *International Journal of Molecular Sciences*, **16**, 805-822.

NAVES L.P., CORRÊA A.D., ABREU C.M.P., SANTOS C.D. (2010). Nutrientes e propriedades funcionais em sementes de abóbora (*Cucurbita maxima*) submetidas a diferentes processamentos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos- Campinas*, **30**, 185-190.

NEPA. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO) (2006). *Campinas: NEPA– UNICAMP*, **2**. Disponível em:< <http://www.unicamp.br/nepa/taco/>>. Acesso em: 15 de setembro de 2015.

OLIVEIRA, M.A. (2015). Brotos de soja: produção, características nutricionais, análise sensorial e processamento. Embrapa Soja – Brasil.

PAJAK, P., SOCHA R., GALKOWSKA D., RO-ZNOWSKI,J., FORTUNA, T. (2014). Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts. *Food Chemistry*. **143**, 300-306.

PAKSOY M., AYDIN C. (2004). Some physical properties of edible squash (*Cucurbita pepo* L.) seeds. *Journal of Food Engineering*, **65**, 225-231.

PEREIRA, V.R., (2008). Ácido Ascórbico – características, mecanismos de atuação e aplicações na indústria de alimentos. Dissertação de Mestrado em Química de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil.

PEREIRA, C., BARROS, L., CARVALHO, A.M., FERREIRA, I.C.F.R. (2011). Nutritional composition and bioactive properties of commonly consumed wild greens: Potential sources for new trends in modern diets. *Food Research International*, **44**, 2634-2640.

PHILLIPS K.M.; RUGGIO D.M.; ASHRAF-KHORASSANI M. (2005) Phytosterol Composition of Nuts and Seeds Commonly Consumed in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 9436-9445.

PIEKARSKI F.V.B.W. (2009). Folha de abóbora: caracterização físico-química, mineral e efeito da adição na reologia da massa e na qualidade sensorial de pães contendo fibra

alimentar. Dissertação de mestrado em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná – Curitiba.

RAMOS, S.R.R. (1996). Caracterização morfológica, multiplicação e documentação de germoplasma de abóbora (*C. moschata*) de regiões do Nordeste Brasileiro. *Petrolina: Embrapa Semi Árido*.

RAMOS, S.R.R.; LIMA N.R.S.; ANJOS, J.L.; CARVALHO, H.W.L.; OLIVEIRA, I.R.; SOBRAL, L.F.; CURADO, F.F. (2010). Aspectos técnicos do cultivo da abóbora na região Nordeste do Brasil. *Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros*.

ROGINSKY, V.; LISSI, E.A. (2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*, **92**, 235-254.

ROP, O.; MLCEK, J.; JURIKOVA, T.; EUGEBAUEROVA, J.; VABKOVA, J. (2012). Edible Flowers-A New Promising Source of Mineral Elements in Human Nutrition. *Molecules*, **17**, 6672-6683.

SAINI, R. K., NILE, S. H., PARK, S. (2015). Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. *Food Research International* **76**, 735-750

SANT'ANNA, L.C. (2005). Avaliação da composição química da semente de abóbora (*Cucurbita pepo*) e do efeito do seu consumo sobre o dano oxidativo hepático de ratos (*Rattus norvegicus*). Dissertação de mestrado em Nutrição. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC, Brasil.

SILVA, E.B.; SILVA, E.S. (2012). Aproveitamento integral de alimentos: avaliação sensorial de bolos com coprodutos da abóbora (*Curcubita moschata*, L.). *Revista verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, **7**, 121-131.

SINGLETON VL, ROSSI JA (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Viticult* **16**, 144-158.

SEROCZYŃSKA, A.; KORZENIEWSKA A.; SZTANGRET-WIŚNIEWSKA, J.; NIEMIROWICZ-SZCZYTT K.; GAJEWSKI, M. (2006). Relationship between carotenoids content and flower or fruit flesh color of winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.). *Folia Horticulturae*, **18**, 51-61.

TARHAN L., KAYALI H.A., UREK R.O. (2007). In Vitro Antioxidant Properties of *Cucurbita pepo* L. Male and Female Flowers Extracts. *Plant Foods for Human Nutrition*, **62**, 49-51.

VALE A.P., CIDADE H., PINTO M.M. OLIVEIRA B.P.P. (2014). Effect of sprouting and light cycle on antioxidant activity of *Brassica oleracea* varieties. *Food Chemistry*, **165**, 379-387.

VIDAL, M. D., Potencial fisiológico e tamanho de sementes de abóbora (2007). Dissertação de Mestrado em Agronomia. Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil.

VILLALTA, A.M.; ERGUN, M.; BERRY, A.D.; SHAW, N., SARGENT, S.A. (2004). Quality changes of yellow summer squash blossoms (*Cucurbita pepo*) during storage. *Acta Horticulturae*, **659**, 831-834.

VILLASEÑOR, I.M.; LEMON, P.; PALILEO, A.; BREMMER, J.B. (1996). Antigenotoxic spinasterol from *Curcubita maxima* flowers. *Mutation Research*, **360**, 89-93.

XANTHOPOULOU M.N., NOMIKOS T., FRAGOPOULOU E., ANTONOPOULOU S. (2009). Antioxidant and lipoxygenase inhibitory activities of pumpkin seed extracts. *Food Research International*, **42**, 641-646.

ZHOU, C.; LIU, W.; ZHAO, J.; YUAN, C.; SONG, Y.; CHEN D.; NI Y.; LI Q. (2014). The effect of high hydrostatic pressure on the microbiological quality and physical-chemical characteristics of pumpkin (*Cucurbita maxima* Duch.) during refrigerated storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **21**, 24-34.

